



Andreia Filipa Magalhães Seixas Lopes dos Santos

Licenciada em Bioquímica

**Estratégias de estabilização de um
fármaco na fase amorfa: impregnação
em matriz polimérica e sílica**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Biotecnologia

Orientador: Maria Teresa Viciosa Plaza, Post-Doc, IST-UL

Co-orientador: Maria Madalena Alves Campos de Sousa

Dionísio Andrade, Prof. Auxiliar, FCT-UNL

Constituição do Júri:

Presidente: Pedro Miguel Calado Simões, Professor Auxiliar, FCT-UNL

Vogal: João Carlos da Silva Barbosa Sotomayor, Professor Auxiliar, FCT-UNL



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro de 2015

Estratégias de estabilização de um fármaco na fase amorfa: impregnação em matriz polimérica e sílica.

Copyright © Andreia Filipa Magalhães Seixas Lopes dos Santos, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Vinte anos. Foram quase vinte anos a estudar. Durante o meu percurso académico conheci várias pessoas, umas permaneceram na minha vida outras nem por isso. No entanto, todas elas tiveram um papel importante no meu crescimento enquanto estudante e ser humano.

Antes de mais, tenho que agradecer a todas as instituições que me acolheram durante o meu período de investigação: Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa e Universidade Lille 1 – Ciências e Tecnologias (França).

À minha orientadora (doutora Maria Teresa Viciosa) e co-orientadora (professora Madalena Dionísio) um grande obrigada por todos os minutos que despenderam a transmitir os conhecimentos necessários para compreender este trabalho e por me terem aceitado de imediato no laboratório.

À professora Natália Correia agradeço imenso pela oportunidade que me deu de estagiar em França, por me ter acompanhado e me ter guiado em Lille para que pudesse aproveitar a minha estadia ao máximo. O meu sincero obrigada ao professor Frédéric Affouard, coordenador do programa AMPTEC, pelo apoio financeiro e a todos os colaboradores que se cruzaram comigo durante o meu período de estágio, em especial à Florence Danède.

Ao professor João Sotomayor obrigada por toda a ajuda que me deu com as amostras preparadas em atmosfera sob vácuo.

A todos os colegas de laboratório que conviveram comigo, tanto em Portugal (Teresa Cordeiro, Daniela Águas, Janaína Araújo e Guilherme Nunes) como em França (Bienvenu Atawa e Mark Eddleston), agradeço imenso pelo companheirismo, transmissão de conhecimentos e amizade. Em especial, obrigada Teresa por tudo, a sério.

Por fim, tenho que agradecer à minha família e amigos por todo o suporte que me deram durante o meu período de estudante, por toda a ajuda a superar indecisões e por todos os momentos felizes que me proporcionaram ao longo destes anos.

Mais uma vez, o meu sincero obrigada! :) Agora siga trabalhar que a Austrália chama por mim.

Resumo

Actualmente, um dos desafios mais importantes da indústria farmacêutica está relacionado com o facto de muitos princípios activos terem uma baixa solubilidade em meio aquoso.

O objectivo deste trabalho foi obter e estabilizar a fase amorfa de dois fármacos, sinvastatina e naproxeno, como alternativa às formas cristalinas comercializadas, tendo em vista o aumento da sua solubilidade.

Nesse contexto, foram testadas duas estratégias diferentes: (i) a sinvastatina foi impregnada num polímero termo-responsivo (Poli-((MEO₂MA-*co*-OEGMA))) em diferentes proporções de polímero/sinvastatina: 2:1, 3:1 e 4:1 e (ii) o naproxeno foi impregnado em matrizes de sílica com diâmetro de poro 5.9 nm e 3.2 nm.

A calorimetria diferencial de varrimento foi utilizada para caracterizar as transformações de fase dos componentes nativos e dos compósitos. Para a mistura 4:1 foi detectada uma transição vítrea localizada a temperaturas intermédias relativamente aos materiais nativos, confirmando a amorfização do fármaco. Após o aquecimento, todas as misturas apresentam uma transição vítrea que está de acordo com o valor previsto pela equação de Fox para misturas ideais.

A espectroscopia de relaxação dieléctrica foi aplicada para investigar a mobilidade do polímero e da mistura 2:1 após tratamento térmico. Devido à elevada condutividade do polímero, os tempos de relaxação foram extraídos através da parte imaginária do módulo eléctrico (M''). No polímero apenas foram detectados dois processos de relaxação. Quanto ao compósito, foram observados quatro processos altamente influenciados pela dinâmica da sinvastatina: dois localizados na região sub-vítrea da amostra e outros dois acima da temperatura de transição vítrea calorimétrica, T_g .

Para o naproxeno/3.2 sílica (impregnação a vácuo), foi detectada uma transição vítrea ($T_g = 3.5^\circ\text{C}$). Estudos complementares por difracção de raios-X e ¹³C-RMN confirmaram o estado amorfo da amostra. A análise termogravimétrica estimou em ~35% a quantidade de naproxeno impregnado em sílica.

O objectivo deste trabalho foi alcançado com sucesso para ambos os fármacos.

Termos-chave: Sinvastatina, Naproxeno, Impregnação, Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC), Espectroscopia de Relaxação Dieléctrica (DRS), Transição vítrea.

Abstract

Nowadays one of the most important challenges of the pharmaceutical industry is related to the fact that many active principles present reduced solubility in aqueous medium.

The purpose of this work was to obtain and stabilize the amorphous phase of two pharmaceutical drugs, simvastatin and naproxen, as alternative of the commercial crystalline forms aiming to improve their water solubility.

In this context, two different strategies were tested: (i) simvastatin was impregnated in a thermoresponsive polymer (Poli-((MEO₂MA-co-OEGMA)) in different polymer/simvastatin proportions: 2:1, 3:1 and 4:1 and (ii) naproxen was impregnated in nanostructured silica matrixes (5.9 nm and 3.2 nm).

Differential scanning calorimetry was used to characterize the phase transformations of the pure components and the composites. For the 4:1 polymer/simvastatin composite a single glass transition was detected with no need of thermal treatment confirming the drug amorphization. This transition is located at intermediated temperature relative to pure constituents. After heating, all the composites exhibit a single glass transition which reasonably agree with the predictions of the Fox equation for ideal mixtures.

Dielectric relaxation spectroscopy was applied to probe the mobility of bulk polymer and 2:1 polymer/simvastatin composite after thermal treatment. Due to the high conductivity of the polymer, the relaxation times were extracted by the imaginary part of the electrical modulus (M''). While for the polymer only two relaxation processes were detected, for the composite four processes were observed highly influenced by the simvastatin dynamics: two processes located in the sub-glass temperature region and other two above calorimetric glass transition temperature, T_g .

For naproxen/3.2 silica (vacuum impregnation) also a single glass transition was detected with $T_g = 3.5^\circ\text{C}$. Complementary characterization by X-ray diffraction and ^{13}C -NMR confirmed the amorphous state of the sample. Thermogravimetry estimated ~35% of naproxen impregnated in silica.

The objective of this work was successfully attained for both pharmaceutical drugs.

Keywords: Simvastatin, Naproxen, Impregnation, Differential Scanning Calorimetry (DSC), Dielectric Relaxation Spectroscopy (DRS), Glass transition.

Índice Geral

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. MOTIVAÇÃO E OBJECTIVO DO TRABALHO	1
1.2. SINVASTATINA E NAPROXENO	2
1.3. POLI-(MEO ₂ MA- <i>co</i> -OEGMA)	4
1.4. TRANSFORMAÇÕES DE FASES	5
1.4.1. TRANSIÇÃO VÍTREA	5
1.4.2. CRISTALIZAÇÃO	6
1.5. CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARRIMENTO (DSC)	7
1.6. ESPECTROSCOPIA DE RELAXAÇÃO DIELECTRICA (DRS)	9
1.6.1. PROCESSOS DE RELAXAÇÃO	13
1.7. MCM-41 E SBA-15	14
1.8. CONFINAMENTO	15
2. MATERIAIS E MÉTODOS	16
2.1. MATERIAIS	16
2.1.1. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	16
2.2. MÉTODOS	19
2.2.1. CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARRIMENTO	19
2.2.2. ESPECTROSCOPIA DE RELAXAÇÃO DIELECTRICA	19
2.2.3. MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA	19
3. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	20
3.1. SINVASTATINA/POLI-(MEO ₂ MA- <i>co</i> -OEGMA)	20
3.1.1. SINVASTATINA NATIVA	20
3.1.2. POLI-(MEO ₂ MA- <i>co</i> -OEGMA) NATIVO	22
3.1.2.1. CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARRIMENTO (DSC)	22
3.1.2.2. ESPECTROSCOPIA DE RELAXAÇÃO DIELECTRICA (DRS)	24
3.1.3. SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLI-(MEO ₂ MA- <i>co</i> -OEGMA), UTILIZANDO SCCO ₂ COMO SOLVENTE	28
3.1.4. SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLI-(MEO ₂ MA- <i>co</i> -OEGMA), UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE	30
3.1.4.1. CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARRIMENTO (DSC)	30
3.1.4.2. ESPECTROSCOPIA DE RELAXAÇÃO DIELECTRICA (DRS)	37
3.2. NAPROXENO/SÍLICA	41
3.2.1. NAPROXENO NATIVO	41
3.2.2. NAPROXENO IMPREGNADO EM SBA-15 (5.9 nm) ATRAVÉS DO MÉTODO TRADICIONAL, UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE	44
3.2.3. NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 (3.2 nm) ATRAVÉS DA TÉCNICA SOB VÁCUO, UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE	45
3.2.4. NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 (3.2 nm) ATRAVÉS DA TÉCNICA SOB VÁCUO, UTILIZANDO CLOROFÓRMIO COMO SOLVENTE	47

<u>4.</u>	<u>CONCLUSÃO</u>	<u>53</u>
<u>5.</u>	<u>BIBLIOGRAFIA</u>	<u>55</u>
<u>6.</u>	<u>ANEXOS</u>	<u>58</u>

Índice de Figuras

FIGURA 1.1 - PRODUTIVIDADE DA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA. IMAGEM RETIRADA DE [2].	1
FIGURA 1.2 - ESTRUTURA QUÍMICA DA SINVASTATINA (ESQUERDA) E DO NAPROXENO (DIREITA).	3
FIGURA 1.3 - REPRESENTAÇÃO DOS DIAGRAMAS DE FASE DAS SOLUÇÕES CONTENDO POLÍMEROS TERMO-RESPONSIVOS, ONDE O EIXO DAS ABCISSAS REPRESENTA A FRACÇÃO EM VOLUME DO POLÍMERO. IMAGEM RETIRADA DE [16].	4
FIGURA 1.4 - ESTRUTURA QUÍMICA DO POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) E DOS SEUS MACROMONÓMEROS MEO ₂ MA E OEGMA.	5
FIGURA 1.5 - DIAGRAMA DE FASES EVIDENCIANDO A DEPENDÊNCIA DO VOLUME E DA ENTALPIA EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA PARA UM COMPOSTO INICIALMENTE LÍQUIDO, COM CAPACIDADE DE CRISTALIZAR E DE FORMAR DOIS TIPOS DE VIDROS SOBREARREFECIDOS. IMAGEM RETIRADA DE [20].	6
FIGURA 1.6 - ESQUEMA ILUSTRATIVO, DO PONTO DE VISTA MACROSCÓPICO, DAS DUAS ETAPAS DO PROCESSO DE NUCLEAÇÃO. IMAGEM RETIRADA DE [23].	7
FIGURA 1.7 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA TAXA DE NUCLEAÇÃO (J_{NUCL}) E DE CRESCIMENTO DE CRISTAIS (J_{GR}) EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA. A INTERSECÇÃO DAS CURVAS, DESTACADA A CINZENTO, DEFINE A GAMA DE TEMPERATURAS ONDE OCORREM AMBOS OS PROCESSOS RESPONSÁVEIS PELA CRISTALIZAÇÃO. IMAGEM RETIRADA DE [21].	7
FIGURA 1.8 - ESQUEMA DE UM CALORÍMETRO COM FLUXO DE CALOR. IMAGEM RETIRADA DE [24].	8
FIGURA 1.9 - DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA DE DUAS AMOSTRAS DIFERENTES ATRAVÉS DE DOIS TERMOGRAMAS OBTIDOS POR DSC. IMAGEM ADAPTADA DE [24].	8
FIGURA 1.10 - TERMOGRAMA EXEMPLIFICATIVO DOS VÁRIOS EVENTOS TÉRMICOS NORMALMENTE ESTUDADOS: TRANSIÇÃO VÍTREA, CRISTALIZAÇÃO, FUSÃO E DEGRADAÇÃO. IMAGEM ADAPTADA DE [27].	9
FIGURA 1.11 - RESPOSTA DE DIELECTRICOS QUANDO SUBMETIDOS A DIFERENTES FREQUÊNCIAS. IMAGEM ADAPTADA DE [29].	10
FIGURA 1.12 – ESPECTRO DA PERMITIVIDADE REAL E IMAGINÁRIA EM FUNÇÃO DA FREQUÊNCIA.	11
FIGURA 1.13 - ESPECTRO DA CONDUTIVIDADE REAL EM FUNÇÃO DA FREQUÊNCIA, ONDE SE ENCONTRAM REPRESENTADAS TRÊS REGIÕES: REGIÃO DE POLARIZAÇÃO DO ELÉCTRODO (EP), REGIÃO DE PATAMAR DA CONDUTIVIDADE DE CORRENTE DIRECTA (COND) E REGIÃO DISPERSIVA ONDE OCORRE SEMI-DIFUSÃO (SD). IMAGEM RETIRADA DE [31].	12
FIGURA 1.14 – IDENTIFICAÇÃO DOS PROCESSOS α , β E γ EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA. IMAGEM ADAPTADA DE [32].	13
FIGURA 1.15 - POSSÍVEL CAMINHO DE SÍNTESE PARA A MCM-41. IMAGEM RETIRADA DE [37].	14
FIGURA 1.16 - POSSÍVEL CAMINHO DE SÍNTESE PARA A SBA-15. IMAGEM RETIRADA DE [36].	15
FIGURA 2.1 - LINHA DE MONTAGEM USADA NOS ENSAIOS EFECTUADOS COM O SCCO ₂ .	18
FIGURA 3.1 - ESQUEMA ILUSTRATIVO DE TODAS AS AMOSTRAS PREPARADAS, ANALISADAS E APRESENTADAS NESTA SECÇÃO.	20
FIGURA 3.2 - MÉTODO UTILIZADO NA CARACTERIZAÇÃO DA SINVASTATINA NATIVA, SENDO A VELOCIDADE DE AQUECIMENTO IGUAL À DE ARREFECIMENTO (10°C/MIN).	21

FIGURA 3.3 - TERMOGRAMA DA SINVASTATINA NATIVA, EVIDENCIANDO OS QUATRO PASSOS ESTUDADOS.	21
FIGURA 3.4 - TERMOGRAMA DA SINVASTATINA NATIVA OBTIDO EM AQUECIMENTO A 10°C/MIN, EVIDENCIANDO A SUA TRANSIÇÃO VÍTREA.	22
FIGURA 3.5 - MÉTODO UTILIZADO NA CARACTERIZAÇÃO DO POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) NATIVO, SENDO A VELOCIDADE DE AQUECIMENTO IGUAL À DE ARREFECIMENTO (10°C/MIN).	23
FIGURA 3.6 - TERMOGRAMA DO POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) NATIVO, EVIDENCIANDO TODOS OS AQUECIMENTOS ESTUDADOS.	23
FIGURA 3.7 - ESPECTROS DA COMPONENTE REAL DA CONDUTIVIDADE, Σ' , COLECTADOS DE 10 EM 10°C NUM INTERVALO DE TEMPERATURAS ENTRE 0 E -50°C, PARA O POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) NATIVO. A LINHA VERMELHA INDICA UM AJUSTE FEITO PELA EQUAÇÃO DE JONSCHER.	24
FIGURA 3.8 - MAPA DE CONDUTIVIDADE DO POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) NATIVO. A LINHA VERMELHA CORRESPONDE AO AJUSTE FEITO ATRAVÉS DA EQUAÇÃO DE VFT.	25
FIGURA 3.9 - ESPECTROS DA COMPONENTE IMAGINÁRIA DO MÓDULO DIELECTRICO, M'' , ENTRE -60 E -32°C, COLECTADAS PARA O POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) NATIVO. A ISOTÉRMICA REPRESENTADA POR CÍRCULOS VERMELHOS REPRESENTA A TEMPERATURA DE TRANSIÇÃO VÍTREA CALORIMÉTRICA (-52°C) DO POLÍMERO.	26
FIGURA 3.10 - ISOTÉRMICA (22°C) DO POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) NATIVO AJUSTADA NO M'' , ATRAVÉS DA EQUAÇÃO HAVRILIAK-NEGAMI.	27
FIGURA 3.11 - MAPA DE RELAXAÇÃO DO POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) NATIVO. AS LINHAS VERMELHAS CORRESPONDEM AOS AJUSTES FEITOS ATRAVÉS DA EQUAÇÃO DE VFT (PROCESSO $\sigma\alpha$) E DA EQUAÇÃO DE ARRHENIUS (PROCESSO β). A LINHA VERTICAL A TRACEJADO INDICA T_{G_ONSET} ESTIMADA POR MEDIDAS CALORIMÉTRICAS.	27
FIGURA 3.12 - MÉTODO UTILIZADO NA CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA DE SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO, UTILIZANDO scCO ₂ COMO SOLVENTE, SENDO A VELOCIDADE DE AQUECIMENTO IGUAL À DE ARREFECIMENTO (10°C/MIN).	29
FIGURA 3.13 - TERMOGRAMA DA SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO, UTILIZANDO scCO ₂ COMO SOLVENTE, EVIDENCIANDO TODOS OS AQUECIMENTOS ESTUDADOS.	29
FIGURA 3.14 - MÉTODO UTILIZADO NA CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO, SENDO A VELOCIDADE DE AQUECIMENTO IGUAL À DE ARREFECIMENTO (10°C/MIN).	30
FIGURA 3.15 - TERMOGRAMA DA SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 2:1), EVIDENCIANDO TODOS OS AQUECIMENTOS ESTUDADOS.	31
FIGURA 3.16 - TERMOGRAMA DA SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 2:1), EVIDENCIANDO O PRIMEIRO ARREFECIMENTO E A TRANSIÇÃO VÍTREA DO POLÍMERO.	32
FIGURA 3.17 - TERMOGRAMA DA SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 3:1), EVIDENCIANDO TODOS OS AQUECIMENTOS ESTUDADOS.	33
FIGURA 3.18 - TERMOGRAMA DA SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 4:1), EVIDENCIANDO TODOS OS AQUECIMENTOS ESTUDADOS.	34

FIGURA 3.19 - TERMOGRAMA DA SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO, EVIDENCIANDO O ÚLTIMO AQUECIMENTO E COMPARANDO AS TRÊS PROPORÇÕES: 2:1, 3:1 E 4:1.	35
FIGURA 3.20 - COMPARAÇÃO ENTRE AS TEMPERATURAS DE TRANSIÇÃO VÍTREA ESTIMADAS PELA EQUAÇÃO DE FOX E AS OBTIDAS EXPERIMENTALMENTE.	36
FIGURA 3.21 - TERMOGRAMA OBTIDO ATRAVÉS DA TÉCNICA DE TERMOGRAVIMETRIA (TGA) DO SINVASTATINA (AZUL), POLÍMERO (VERDE) E DA SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO (VERMELHO). ESTES ENSAIOS FORAM EXECUTADOS PELA DRA. FLORENCE DANÈDE.....	36
FIGURA 3.22 - ESPECTROS DA COMPONENTE IMAGINÁRIA DO MÓDULO DIELECTRICO, M'' , ENTRE 10 E 30°C, COLECTADAS PARA A MISTURA ENTRE A SINVASTATINA E O POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 2:1). A ISOTÉRMICA REPRESENTADA POR CÍRCULOS VERMELHOS FOI ADQUIRIDA A 22°C (VER A SIMULAÇÃO NA FIGURA 3.23).	37
FIGURA 3.23 - ISOTÉRMICA (22°C) DA MISTURA ENTRE A SINVASTATINA E O POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 2:1) AJUSTADA NO M'' , ATRAVÉS DA EQUAÇÃO HAVRILIAK-NEGAMI.	38
FIGURA 3.24 - MAPA DE RELAXAÇÃO DA MISTURA ENTRE A SINVASTATINA E O POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 2:1). AS LINHAS VERMELHAS CORRESPONDEM AOS AJUSTES FEITOS ATRAVÉS DA EQUAÇÃO DE VFT (PROCESSO σ) E DA EQUAÇÃO DE ARRHENIUS (PROCESSO α , β E γ). A LINHA VERTICAL A TRACEJADO INDICA T_{G_ONSET} ESTIMADA POR MEDIDAS CALORIMÉTRICAS.	39
FIGURA 3.25 - COMPARAÇÃO ENTRE A SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 2:1, ASSINALADA POR CÍRCULOS) E OS SEUS CONSTITUINTES NATIVOS, SENDO A SINVASTATINA DESIGNADA POR TRIÂNGULOS E O POLÍMERO POR LOSANGOS.	40
FIGURA 3.26 - MÉTODO UTILIZADO NA CARACTERIZAÇÃO DO NAPROXENO NATIVO, SENDO A VELOCIDADE DE AQUECIMENTO IGUAL À DE ARREFECIMENTO: 10°C/MIN NOS PRIMEIROS SEIS PASSOS E 30°C/MIN NOS ÚLTIMOS DOIS.	41
FIGURA 3.27 - TERMOGRAMA DO NAPROXENO NATIVO, EVIDENCIANDO O SEGUNDO ARREFECIMENTO E O TERCEIRO AQUECIMENTO.	42
FIGURA 3.28 - FUSÃO DO NAPROXENO RETRATADO ATRAVÉS DA MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA. AS IMAGENS FORAM CAPTADAS COM UM ZOOM DE 40X E UTILIZANDO POLARIZADORES CRUZADOS. A MONOTORIZAÇÃO DA FUSÃO DO NAPROXENO FOI FEITA ENTRE 70 E 170°C, EM AQUECIMENTO, A UMA VELOCIDADE DE 5°C/MIN.	43
FIGURA 3.29 - FUSÃO E RECRISTALIZAÇÃO DO NAPROXENO RETRATADOS ATRAVÉS DA MICROSCOPIA DE LUZ POLARIZADA. AS IMAGENS FORAM CAPTADAS COM UM ZOOM DE 40X E UTILIZANDO POLARIZADORES CRUZADOS. A MONOTORIZAÇÃO DA FUSÃO E RECRISTALIZAÇÃO DO NAPROXENO FOI FEITA ENTRE 70 E 170°C A UMA VELOCIDADE DE 5°C/MIN.	43
FIGURA 3.30 - MÉTODO UTILIZADO NA CARACTERIZAÇÃO DO NAPROXENO IMPREGNADO EM SBA-15 ATRAVÉS DO MÉTODO TRADICIONAL, SENDO A VELOCIDADE DE AQUECIMENTO IGUAL À DE ARREFECIMENTO: 10°C/MIN EM TODOS OS PASSOS EXCEPTUADO O ÚLTIMO CUJA VELOCIDADE DE AQUECIMENTO FOI DE 20°C/MIN.	44
FIGURA 3.31 - TERMOGRAMA DO NAPROXENO IMPREGNADO EM SBA-15 ATRAVÉS DO MÉTODO TRADICIONAL, EVIDENCIANDO TODOS OS AQUECIMENTOS ESTUDADOS.	44
FIGURA 3.32 - MÉTODO UTILIZADO NA CARACTERIZAÇÃO DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 ATRAVÉS DA TÉCNICA SOB VÁCUO, SENDO A VELOCIDADE DE AQUECIMENTO IGUAL À DE ARREFECIMENTO: 10°C/MIN NOS PRIMEIROS QUATRO PASSOS E 30°C/MIN NOS ÚLTIMOS DOIS.	45

FIGURA 3.33 - TERMOGRAMA DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 ATRAVÉS DA TÉCNICA SOB VÁCUO, EVIDENCIANDO TODOS OS AQUECIMENTOS ESTUDADOS.	46
FIGURA 3.34 - TERMOGRAMA DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 ATRAVÉS DA TÉCNICA SOB VÁCUO, EVIDENCIANDO ÚLTIMO AQUECIMENTO E COMPARANDO O COMPORTAMENTO TÉRMICO DA AMOSTRA COM O DA SÍLICA PURA.	47
FIGURA 3.35 - MÉTODO UTILIZADO NA CARACTERIZAÇÃO DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 ATRAVÉS DA TÉCNICA SOB VÁCUO, SENDO A VELOCIDADE DE AQUECIMENTO IGUAL À DE ARREFECIMENTO: 10°C/MIN NOS PRIMEIROS CINCO PASSOS E 30°C/MIN NOS ÚLTIMOS TRÊS.	47
FIGURA 3.36 - TERMOGRAMA DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 ATRAVÉS DA TÉCNICA SOB VÁCUO, EVIDENCIANDO TODOS OS AQUECIMENTOS ESTUDADOS.	48
FIGURA 3.37 - TERMOGRAMA DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 ATRAVÉS DA TÉCNICA SOB VÁCUO, EVIDENCIANDO O ENVELHECIMENTO FEITO À AMOSTRA.	49
FIGURA 3.38 - TERMOGRAMA OBTIDO ATRAVÉS DA TÉCNICA DE TERMOGRAVIMETRIA (TGA) DO NAPROXENO (AZUL), MCM-41 (VERDE) E DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 (VERMELHO). ESTES ENSAIOS FORAM EXECUTADOS PELA DRA. FLORENCE DANÈDE.....	50
FIGURA 3.39 - ESPECTRO DE ATR-FTIR DO NAPROXENO (AZUL), MCM-41 (VERMELHO) E DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 (VERDE) ESTES ENSAIOS FORAM FEITOS SOB A SUPERVISÃO DO DR. ABDENACER IDRISSE.	51
FIGURA 3.40 - ESPECTRO DE DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (XRD) DO NAPROXENO (AZUL), MCM-41 (VERMELHO) E DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 (VERDE).	51
FIGURA 3.41 - ESPECTRO DE ¹³ C-RMN DO NAPROXENO (VERMELHO), MCM-41 (VERDE) E DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 (AZUL). DE MODO A SE OBTER UM SINAL COM MENOS RUÍDO, O ESPECTRO DO COMPÓSITO FOI PROGRAMADO PARA ACUMULAR DURANTE 3.5 DIAS. ESTES ENSAIOS FORAM FEITOS SOB A SUPERVISÃO DO DR. BERTRAND DOUMERT.	52
FIGURA 6.1 - POSTER APRESENTADO NA CONFERÊNCIA AMPTEC 2014 (9-11 DE JULHO, LILLE, FRANÇA).....	58

Índice de Tabelas

TABELA 1.1 - CLASSIFICAÇÃO DE UM FÁRMACO EM FUNÇÃO DA SUA SOLUBILIDADE.....	1
TABELA 2.1 - INFORMAÇÕES ACERCA DOS FÁRMACOS ESTUDADOS.....	16
TABELA 2.2 - INFORMAÇÕES ACERCA DAS SÍLCAS UTILIZADAS.	16
TABELA 2.3 - AMOSTRAS PREPARADAS UTILIZANDO AS SÍLCAS COMO MATRIZES.....	16
TABELA 2.4 - AMOSTRAS PREPARADAS UTILIZANDO O POLÍMERO COMO MATRIZ.	17
TABELA 3.1 - TEMPERATURA DE CONVERSÃO E ENTALPIA ASSOCIADAS AOS POLIMORFOS DA SINVASTATINA.....	22
TABELA 3.2 - RESUMO DAS TEMPERATURAS DE TRANSIÇÃO VÍTREA DO POLI-(MEO ₂ MA-co- OEGMA).....	23
TABELA 3.3 - PARÂMETROS OBTIDOS PELA EQUAÇÃO DE VOGEL-FULCHER-TAMMANN APLICADA À CONDUTIVIDADE DE CORRENTE DIRECTA DO POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) NATIVO...	26
TABELA 3.4 - RESUMO DOS PROCESSOS SIMULADOS PARA O POLI-(MEO ₂ MA-co-OEGMA) NATIVO.	28
TABELA 3.5 - RESUMO E COMPARAÇÃO DOS EVENTOS TÉRMICOS REGISTRADOS NA SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO, UTILIZANDO SCCO ₂ COMO SOLVENTE.	30
TABELA 3.6 - TEMPERATURA DE CONVERSÃO E ENTALPIA ASSOCIADAS AOS POLIMORFOS DA SINVASTATINA NATIVA E DA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 2:1).	31
TABELA 3.7 - RESUMO DAS TEMPERATURAS DE TRANSIÇÃO VÍTREA DA SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 4:1).	34
TABELA 3.8 - RESUMO DAS TEMPERATURAS DE FUSÃO E DE TRANSIÇÃO VÍTREA OBTIDAS PARA AS DIFERENTES PROPORÇÕES DE SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO- RESPONSIVO. A ÚLTIMA COLUNA CONTÉM AS TEMPERATURAS DE TRANSIÇÃO VÍTREA ESTIMADA PELA EQUAÇÃO DE FOX E O RESPECTIVO ERRO.	35
TABELA 3.9 - RESUMO DOS PROCESSOS SIMULADOS PARA A SINVASTATINA IMPREGNADA NO POLÍMERO TERMO-RESPONSIVO (PROPORÇÃO - 2:1).	39
TABELA 3.10 - RESUMO DAS TEMPERATURAS DE CRISTALIZAÇÃO E FUSÃO DO NAPROXENO....	42
TABELA 3.11 - RESUMO DAS TEMPERATURAS DE CRISTALIZAÇÃO E FUSÃO DO NAPROXENO IMPREGNADO EM MCM-41 ATRAVÉS DA TÉCNICA SOB VÁCUO, UTILIZANDO ETANOL COMO SOLVENTE.....	46
TABELA 6.1 - ESTIMATIVA DOS CUSTOS ASSOCIADOS A ESTE TRABALHO.	59

Lista de Símbolos e Abreviaturas

^{13}C-RMN	Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13
ATR-FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Reflectância Total Atenuada
DRS	Espectroscopia de Relaxação Dielétrica
DSC	Calorimetria Diferencial de Varrimento
Ea	Energia de activação
HN	Havriliak-Negami
M*	Módulo eléctrico complexo
M'	Parte real do módulo eléctrico
M''	Parte imaginária do módulo eléctrico
MCM-41 (3.2 nm)	Sílica mesoporosa com diâmetro de poro de 3.2 nm
Poli-(MEO₂MA-<i>co</i>-OEGMA)	Polímero formado pelos monómeros 2-(2-metoxietoxi-etil metacrilato) e oligo(etilenoglicol)metacrilato
POM	Microscopia de Luz Polarizada
SBA-15 (5.9 nm)	Sílica mesoporosa com diâmetro de poro de 5.6 nm
scCO₂	Dióxido de carbono supercrítico
T	Temperatura
T_c	Temperatura de cristalização
T_g	Temperatura de transição vítrea
T_m	Temperatura de fusão
TGA	Análise Termogravimétrica
VFT	Vogel-Fulcher-Tammann
XRD	Difracção de Raios-X de pó
ϵ^*	Permitividade dielétrica complexa
ϵ'	Parte real da permitividade dielétrica
ϵ''	Parte imaginária da permitividade dielétrica
f	Frequência
ω	Frequência angular
σ^*	Condutividade eléctrica complexa
σ'	Parte real da condutividade eléctrica
σ''	Parte imaginária da condutividade eléctrica
σ_{dc}	Condutividade de corrente directa

σ_{∞}	Condutividade a temperaturas elevadas
τ	Tempo de relaxação
τ_{∞}	Tempo de relaxação a temperaturas elevadas

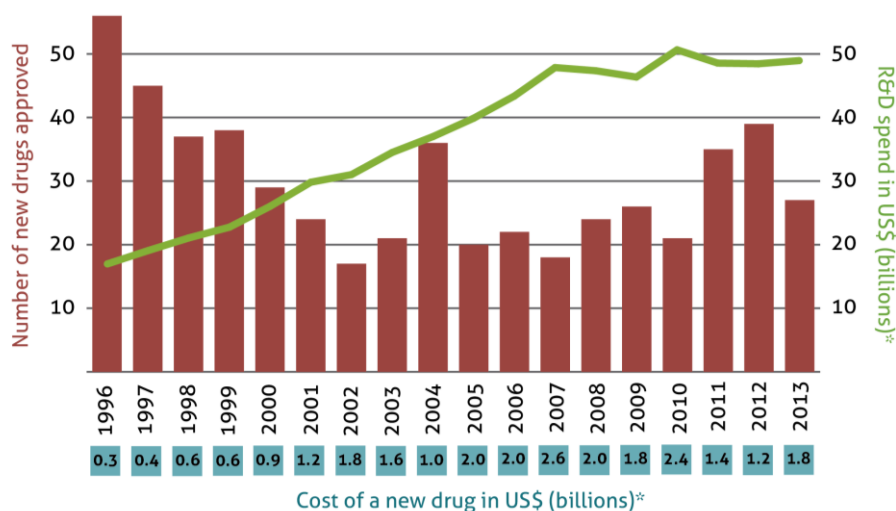
1. Introdução

1.1. Motivação e Objectivo do Trabalho

A indústria farmacêutica, nos últimos anos, tem vindo a notar uma diminuição do número de novos fármacos aprovados. No entanto, o mesmo não se verifica com o dinheiro investido na investigação e desenvolvimento de novas moléculas terapêuticas (Figura 1.1). Por outro lado, cada vez mais, as indústrias farmacêuticas trabalham no sentido de melhorar o potencial terapêutico dos fármacos, sendo que essa tarefa é fortemente dificultada pela fraca solubilidade em sistemas aquosos de grande parte dos compostos já existentes assim como os descobertos recentemente [1]. Nos dias de hoje, na maioria dos medicamentos, esse défice de solubilidade ainda é compensado com um excesso de fármaco na dosagem administrada ao paciente, o que, para além de não ser benéfico para o ser humano, se traduz num custo extra que as indústrias farmacêuticas querem reduzir.

Productivity of the pharma industry

Finding the true cost of a new drug is complex and controversial...



Data: USFDA, PhRMA

Akshat Rathi | theconversation.com

* New drug cost and R&D spend could be 30% higher if non-PhRMA members are included

Figura 1.1 - Produtividade da indústria farmacêutica. Imagem retirada de [2].

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (*Biopharmaceutical Classification System*, BCS), as moléculas com actividade farmacológica podem dividir-se em quatro classes. A segunda e a quarta englobam os fármacos cuja solubilidade em meios aquosos é baixa.

Tabela 1.1 - Classificação de um fármaco em função da sua solubilidade.

Classe	Solubilidade em meio aquoso	Permeabilidade intestinal
I (anfipática)	Alta	Alta
II (lipofílica)	Baixa	Alta
III (hidrofílica)	Alta	Baixa
IV (hidrofóbica)	Baixa	Baixa

Actualmente existem diversas estratégias para aumentar a solubilidade dos compostos farmacêuticos, sendo uma das mais utilizadas a conjugação do princípio activo (molécula que concentra as propriedades terapêuticas) com um determinado excipiente. Excipiente esse que poderá ser capaz de alterar a forma do princípio activo, fazendo com que este passe de cristalino para amorfo [1]. O estado amorfo é um estado com particular interesse, pois, ao se reduzir o grau de cristalinidade de um composto, o mesmo tende a aumentar a sua mobilidade molecular e, por consequência, a sua biodisponibilidade [3]. A biodisponibilidade é o conceito termofarmacocinético usado para exprimir a velocidade com que o princípio activo é absorvido a partir de um medicamento e se torna disponível no local de acção [4]. No entanto, o estado amorfo é um estado termodinamicamente instável, pelo que existe uma tendência natural para a cristalização do material. Deste modo, é necessário estabilizar o fármaco no estado amorfo e garantir que o mesmo se encontra nesse estado até ser administrado ao paciente [3,5]. Matrizes de sílica, polímeros e nanopartículas são alguns exemplos de sistemas que poderão funcionar para esses fins [1].

Assim sendo, o presente trabalho teve como objectivo explorar a influência de duas matrizes no estado amorfo dos fármacos sinvastatina e naproxeno, tendo em vista o aumento da solubilidade. Como matrizes alvo, investigaram-se as potencialidades de um polímero termorresponsivo e de dois tipos de sílica com diferentes tamanhos de poro. Para além disso, recorreu-se a diversas técnicas na preparação das amostras, como, por exemplo, incorporação por vácuo e utilização de dióxido de carbono supercrítico (scCO₂) como solvente. A caracterização das transformações de fase foi feita por Calorimetria Diferencial de Varrimento (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC). Numa etapa seguinte, e depois de se ter determinado um sistema cujo princípio activo amorfizou e estabilizou nesse estado, estudou-se a dinâmica vítrea e o transporte de cargas da mistura através da Espectroscopia de Relaxação Dielétrica (*Dielectric Relaxation Spectroscopy*, DRS). Estudos complementares foram feitos através das seguintes técnicas: Termogravimetria (*Thermogravimetric Analysis*, TGA), Espectroscopia de Infravermelho por Reflectância Total Atenuada (*Attenuated Total Reflectance - Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, ATR-FTIR), Difracção de Raios-X de pós (*X-ray powder Diffraction*, XRD) e Ressonância Magnética Nuclear de carbono 13 (¹³C-RMN). Por outro lado, recorreu-se à Microscopia de Luz Polarizada (*Polarized Optical Microscopy*, POM) para visualizar em tempo real a cristalização e a fusão do naproxeno.

1.2. Sinvastatina e Naproxeno

Segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica, tanto a sinvastatina como o naproxeno são lipofílicos, ou seja, ambos apresentam uma baixa solubilidade em meios aquosos, mas têm uma elevada permeabilidade intestinal [1,6].

A sinvastatina ((1S,3R,7S,8S,8aR)-8-{2-[(2R,4R)-4-hidroxi-6-oxotetrahydro-2H-piran-2-yl]etil}-3,7-dimetil-1,2,3,7,8,8a-hexahidronaftaleno-1-il 2,2-dimetilbutanato, segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada) é um pró-fármaco receitado para reduzir os níveis de colesterol e de lípidos no sangue [7]. É um derivado sintético de um produto de fermentação de *Aspergillus terreus*. A nível de classificação, pertence à classe química das estatinas, sendo mais precisamente uma lactona. Após ser absorvida pelo tracto gastrointestinal, a sinvastatina é metabolizada no fígado para a sua forma activa, o ácido β-hidroxi [8,9]. Este processo é efectuado pela isoenzima CYP3A4 que pertence à família dos citocromos P450 [10,11]. A sinvastatina, assim como as restantes estatinas, actua como um inibidor da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima

A redutase (HMGCR) [10,11]. Esta enzima catalisa a conversão da HMGCR em mevalonato, diminuindo assim a síntese do colesterol no fígado e, conseqüentemente, no interior das células. Este processo desencadeia um aumento dos receptores de lipoproteínas de baixa densidade (colesterol LDL, vulgarmente apelidado de mau colesterol) nas membranas dos hepatócitos, aumentando assim a eliminação das LDL da corrente sanguínea. Para além de reduzirem as concentrações de colesterol total, LDL e lipoproteínas de muito baixa densidade (colesterol VLDL) e triglicéridos, as estatinas aumentam as concentrações de lipoproteínas de alta densidade (colesterol HDL, mais conhecido por bom colesterol) [10,11]. Existem estudos que ditam que as estatinas agem beneficemente no metabolismo ósseo, sendo capazes de aumentar a densidade mineral óssea, protegendo então o esqueleto contra danos e fracturas [10]. No entanto, a sinvastatina apresenta uma biodisponibilidade de 5%, o que significa que apenas 5% da quantidade ingerida é absorvida e desempenha uma actividade terapêutica [6]. Termicamente, este fármaco exhibe polimorfismo⁽¹⁾ [12] e apresenta uma temperatura de transição vítrea registada a ~35°C e um ponto de fusão a cerca de 140°C.

O naproxeno (ácido (+)-(S)-(6-metóxi- α -metil-2-naftaleno)-propanóico, segundo a IUPAC) é um anti-inflamatório, administrado por via oral e que tem efeitos analgésicos e antipiréticos. Devido às suas propriedades, é fortemente utilizado no combate de dores, febres e inflamações, uma vez que inibe de forma não selectiva as COX-1 e 2 [13]. É produzido em grande escala através de uma reacção química, sendo o seu precursor o 2-naftol. Tem propriedades ácidas e pertence à classe dos ácidos fenilpropanóicos [14]. Aparenta ser um sólido cristalino de cor branca, sem sinais de polimorfismo [15] e cuja absorção no tracto gastrointestinal ocorre de uma forma rápida e completa. No interior do organismo, mais de 99% da dose terapêutica administrada liga-se à albumina, o que contribui para a sua distribuição ao longo da corrente sanguínea. O pico dos níveis plasmáticos é atingido entre duas a quatro horas após a ingestão. Tendo em conta a sua baixa solubilidade em soluções aquosas, é necessário metabolizar o naproxeno no fígado pela subfamília de citocromos CYP2C9 para que posteriormente seja eliminado [13]. Termicamente, o naproxeno apresenta dois eventos térmicos: fusão (157.49°C) e transição vítrea (6.2°C), ainda que esta última seja apenas visível quando se submete a amostra a *Quench Cooling*⁽²⁾ [15].

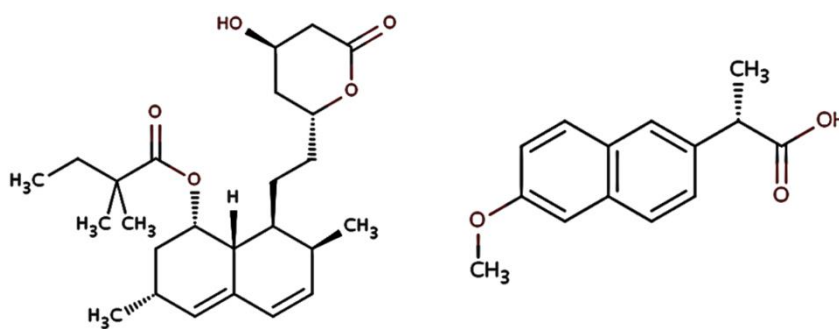


Figura 1.2 - Estrutura química da sinvastatina (esquerda) e do naproxeno (direita).

⁽¹⁾ Um material polimorfo exhibe vários arranjos cristalinos das mesmas moléculas no estado sólido que resultam de diferentes interações entre elas, originando cristais com diferentes propriedades físico-químicas, como a solubilidade, estabilidade estrutural, velocidade de dissolução, densidade e ponto de fusão.

⁽²⁾ *Quench Cooling* é o nome que se dá ao processo onde a amostra é arrefecida abaixo da sua fase de cristalização, tendo como objectivo evitar a formação de cristais. Normalmente, é utilizado azoto líquido para garantir que este processo ocorre de uma forma rápida e eficaz.

1.3. Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA)

Materiais “inteligentes”, isto é, materiais que têm a capacidade de responder a estímulos externos representam uma das classes que têm sido mais alvo de interesse por parte da comunidade científica [16]. Um dos principais grupos desses materiais é baseado em polímeros porque são mais baratos e fáceis de adaptar, ao contrário dos metais e dos cerâmicos. Estes polímeros podem responder a diversos estímulos, como pH, temperatura, campos magnéticos ou até mesmo sinais biológicos, pelo que apresentam uma vasta gama de aplicações que incluem sensores, engenharia de tecidos e libertação controlada de princípios activos [16].

Designa-se de polímero termo-responsivo um material que responde à temperatura, sendo que existem dois tipos de polímeros termo-responsivos: os que têm uma temperatura crítica de solução baixa (LCST, do inglês *Lower Critical Solution Temperature*) e os que apresentam uma temperatura crítica de solução alta (UCST, do inglês *Upper Critical Solution Temperature*) [16]. LCST e UCST representam, respectivamente, os pontos abaixo e acima a partir dos quais o polímero e o solvente são completamente miscíveis [17], tal como esquematiza a Figura 1.3. Deste modo, por exemplo, uma solução de polímero que se encontra abaixo do seu LCST apresenta uma aparência límpida e homogénea, enquanto que a mesma solução acima da temperatura crítica tem um aspecto turvo [16]. A razão pela qual a separação de fases é mais eficaz se aumentarmos a temperatura é devido à entropia do sistema, sendo a principal responsável a água, que, quando o polímero não está em solução, é menos ordenada e, por isso, tem uma entropia superior (efeito hidrofóbico). Segundo a equação de Gibbs, $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ (onde G é a energia de Gibbs, H a entalpia e S a entropia), processos para os quais o ΔG é negativo são espontâneos, pelo que a temperatura tem um efeito directo no sistema. Deste modo, para contrabalançar a adição do polímero à solução, incrementa-se a temperatura para assim se aumentar a entropia [16].

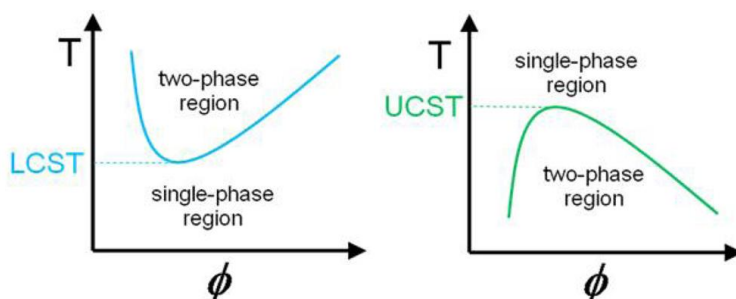


Figura 1.3 - Representação dos diagramas de fase das soluções contendo polímeros termo-responsivos, onde o eixo das abcissas representa a fracção em volume do polímero. Imagem retirada de [16].

O copolímero de 2-(2-metoxietoxietil metacrilato) e oligo(etilenoglicol)metacrilato (Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA)) é constituído por dois macromonómeros que derivam do polietilenoglicol (PEG) e seguem o diagrama de fases do tipo LCST [18]. Uma das vantagens de se modificar as cadeiras de PEG é que permite obter uma estrutura final ramificada, não linear e com diferentes graus de hidrofiliicidade [18]. No caso do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA), o monómero OEGMA (475 g/mol) é mais hidrofóbico que o MEO₂MA e isso traduz-se na sua temperatura crítica de solução baixa. Assim sendo, o OEGMA pode apresentar no máximo uma LCST na ordem dos 90°C, enquanto que MEO₂MA ronda os 26°C, pelo que o polímero resultante terá uma LCST entre esses dois valores, dependendo da proporção dos monómeros [18]. À temperatura ambiente, o balanço entre as interacções polímero-água e as interacções hidrofóbicas é suficiente para permitir a solubilização do polímero. Após se cruzar a sua temperatura crítica,

este equilíbrio é perturbado e as interações polímero-polímero são termodinamicamente favorecidas em comparação com as interações polímero-água. Deste modo, esse aumento de temperatura favorece a expansão das cadeias do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA), facilitando assim a incorporação de, por exemplo, um fármaco [18].

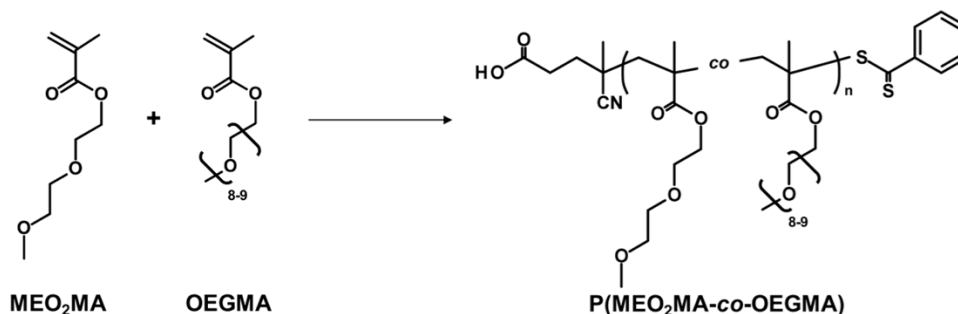


Figura 1.4 - Estrutura química do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) e dos seus macro-monómeros MEO₂MA e OEGMA.

Neste trabalho prático, o polímero foi sintetizado via RAFT (*Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer*), uma das técnicas utilizadas na polimerização e que apresenta bons resultados a engenheirar os monómeros derivados do PEG, na proporção de 9 (MEO₂MA) para 1 (OEGMA). Esta tarefa foi executada pelo grupo de investigação supervisionado pelo Professor José Paulo Farinha do CQFM-IST.

1.4. Transformações de Fases

1.4.1. Transição vítrea

Entende-se por vidro um material cuja estrutura é desordenada, mas que se comporta como um sólido. O estado vítreo é frequentemente encontrado na natureza, sendo a sua utilização na tecnologia cada vez mais procurada. Ao contrário da fusão, a transição vítrea é um parâmetro cinético que depende da taxa de variação da temperatura e da memória térmica do material. Para além disso, a transição vítrea é uma grandeza que permite correlacionar propriedades estruturais e termodinâmicas [19]. A figura seguinte ilustra a dependência do volume e da entalpia de um líquido, a pressão constante, em função da temperatura.

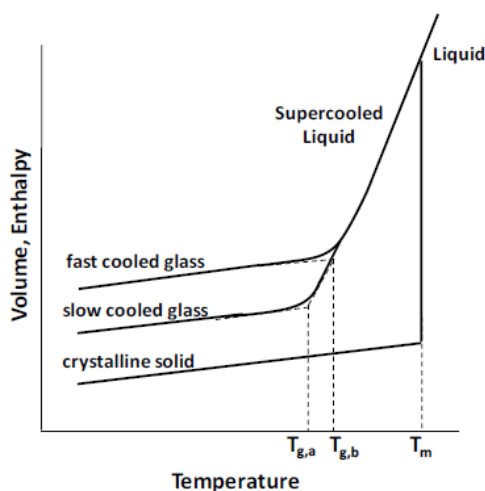


Figura 1.5 - Diagrama de fases evidenciando a dependência do volume e da entalpia em função da temperatura para um composto inicialmente líquido, com capacidade de cristalizar e de formar dois tipos de vidros sobrearrefecidos. Imagem retirada de [20].

Quando uma substância no seu estado líquido é arrefecida abaixo da sua temperatura de fusão, os tempos associados aos movimentos moleculares aumentam com a diminuição da temperatura. Isto deve-se ao facto da viscosidade do material aumentar bruscamente com o decréscimo de temperatura. Por outro lado, caso o arrefecimento seja suficientemente rápido, as moléculas não terão o tempo necessário para se rearranjarem e formarem uma rede cristalina. Neste caso, o material passa para o estado de líquido sobrearrefecido, evitando assim a sua cristalização. Com a subsequente descida de temperatura, a substância acaba por vitrificar, apresentando a viscosidade de um sólido, mas conservando a desordem do líquido que lhe deu origem. Assim, se obtém um material que é designado de líquido formador de vidro [19].

1.4.2. Cristalização

Em qualquer sistema macroscópico em equilíbrio, ocorrem variações nos valores das propriedades macroscópicas, variações essas que são apelidadas de flutuações e que estão relacionadas com o aumento localizado do potencial termodinâmico [21]. Em sistemas moleculares homogêneos, sejam no estado líquido ou vapor, existem sempre pequenas oscilações de densidade. As que surgem na fase de equilíbrio são breves no sentido em que rapidamente tendem para o estado inicial e correspondem à formação de *clusters*, isto é, agregados de moléculas, que estão constantemente a formar-se e a dissociar-se. No entanto, se as flutuações ocorrerem numa fase metaestável, como a de líquido sobrearrefecido, caso se observem as condições ideais, a taxa de formação de *clusters* poderá ser mais elevada que a taxa de dissociação, pelo que existirá uma maior tendência para a formação de um cluster com maiores dimensões. Numa fase posterior, este *cluster* irá se converter e originar um núcleo de cristal [22].

De uma forma geral, a cristalização advém da formação de dois processos (nucleação e crescimento) e requer a presença de um núcleo sobre o qual os cristais irão crescer [21]. O primeiro processo, a nucleação, pode ocorrer rapidamente e, nesse caso, origina a formação de um elevado número de cristais simultaneamente, sendo o tamanho destes semelhantes entre si. Por outro lado, se a nucleação for realizada mais lentamente, no mesmo período de tempo, o número de cristais criados diminui, o que origina uma população constituída por cristais de

diversas dimensões e formas [23]. A Figura 1.6 esquematiza o processo de nucleação, segundo estudos recentes que o dividem em duas etapas diferentes: a criação de gotículas de líquido denso e a nucleação no interior da partícula. Este processo e o seu controlo são cruciais para a quantia, tamanho, perfeição, polimorfismo e outras características dos materiais cristalinos.

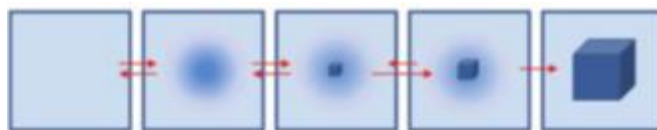


Figura 1.6 - Esquema ilustrativo, do ponto de vista macroscópico, das duas etapas do processo de nucleação. Imagem retirada de [23].

Quanto ao crescimento de cristais, é um processo totalmente dependente da nucleação, visto que são necessários núcleos para que haja o crescimento que gera os cristais. Ambas as etapas responsáveis pela formação de cristais surgem acima da temperatura de transição vítrea e abaixo do ponto de fusão, sendo que cada uma delas tem a sua temperatura ideal à qual o processo apresenta a velocidade máxima (Figura 1.7). Para além disso, a temperatura a que ocorre o máximo da nucleação é inferior à temperatura óptima correspondente à etapa do crescimento. A diferença de graus entre os dois máximos varia consoante o material em estudo e o seu historial térmico. A temperatura tanto pode favorecer como prejudicar as taxas de nucleação e crescimento de cristais. Isto é, se, por um lado, um decréscimo de temperatura promove a nucleação, por outro, se a temperatura for demasiado baixa ao ponto de se aproximar da temperatura de transição vítrea, a formação de *clusters* favoráveis ao aparecimento de núcleos de cristalização iria ser impedida cineticamente. O mesmo se verifica em relação ao crescimento de cristais, em que, se a temperatura da amostra for demasiado baixa, a difusão de partículas diminuiria, impossibilitando, assim, o crescimento de cristais [21]. Por outro lado, se a temperatura for muito alta, a desordem que impõe ao sistema desfavorece a manutenção de cristais.

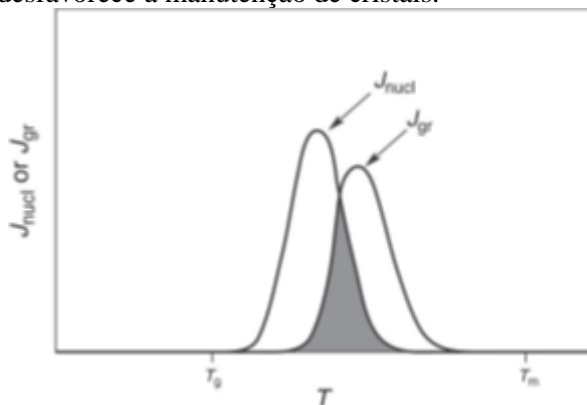


Figura 1.7 - Representação esquemática da taxa de nucleação (J_{nucl}) e de crescimento de cristais (J_{gr}) em função da temperatura. A interseção das curvas, destacada a cinzento, define a gama de temperaturas onde ocorrem ambos os processos responsáveis pela cristalização. Imagem retirada de [21].

1.5. Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC)

Nos últimos anos, esta técnica tem-se tornado numa ferramenta indispensável no desenvolvimento e compreensão da resposta térmica de novos fármacos ou formulações. A Calorimetria Diferencial de Varrimento proporciona informação detalhada sobre as propriedades físicas e enérgicas dos compostos. Tem como grande vantagem o facto de necessitar de pequenas quantidades de amostra, na ordem dos 4 mg. Eventos térmicos como a libertação e absorção de

energia ou alterações na capacidade calorífica das substâncias podem ser estudados com precisão e rapidez por DSC. Para além disso, é a técnica mais usada para a monitorizar transformações de fase.

Na Calorimetria Diferencial de Varrimento com fluxo de calor, tanto a amostra como a referência (cápsula vazia) encontram-se em cima de discos termoelétricos no mesmo bloco de aquecimento. O fluxo de calor proveniente do aquecimento actua de igual forma em ambas as cápsulas, sendo calculada a diferença de saída de calor entre as duas [24].

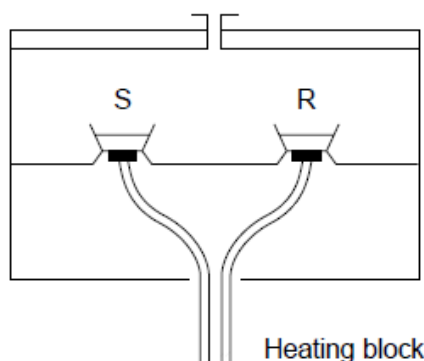


Figura 1.8 - Esquema de um calorímetro com fluxo de calor. Imagem retirada de [24].

Esta técnica será posteriormente usada para a deteção das transformações de fase, como a fusão a cristalização e a transição vítrea, nos diferentes materiais estudados. A determinação da temperatura de transição vítrea (*glass transition temperature*, T_g) por calorimetria é feita a partir da descontinuidade que se observa no fluxo de calor. Uma vez que a transição ocorre num intervalo limitado e não a uma temperatura específica, o valor de T_g é dado por um dos valores de início (*onset*), meio (*midpoint*) ou fim (*endset*) da variação da sigmoide do fluxo de calor, tal como se encontra ilustrado na Figura 1.9.

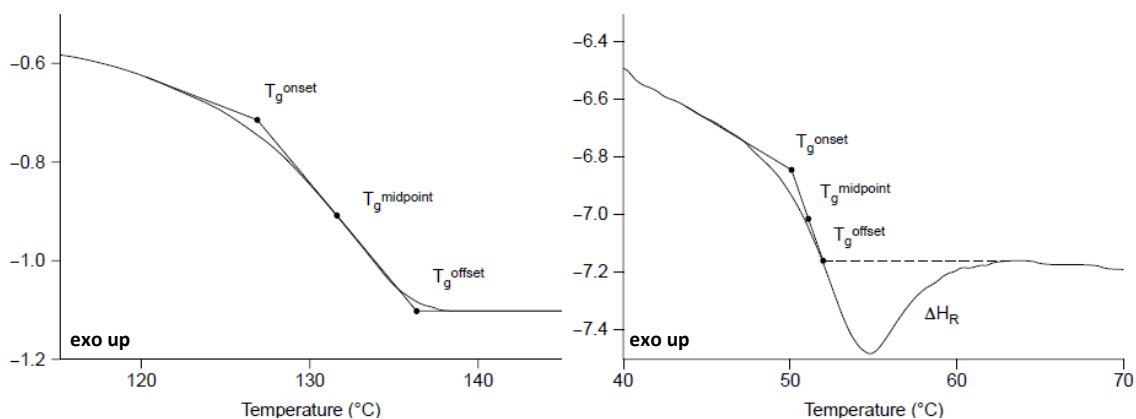


Figura 1.9 - Determinação da temperatura de transição vítrea de duas amostras diferentes através de dois termogramas obtidos por DSC. Imagem adaptada de [24].

A T_{g_onset} é definida como sendo a temperatura a partir da qual a linha de fluxo de calor se afasta da linha correspondente ao material vitrificado (abaixo da T_g), enquanto que a $T_{g_midpoint}$ corresponde à temperatura onde se regista a alteração de 50% da capacidade calorífica da transição [25,26]. Por fim, a T_{g_endset} é definida como sendo a temperatura a partir da qual a linha de fluxo de calor se aproxima da linha do líquido.

Quanto à cristalização, esta surge nos termogramas como um pico exotérmico, dado que se trata de um evento que liberta energia. Pelo contrário, a fusão, sendo um fenómeno que absorve energia, aparece como sendo um pico endotérmico.

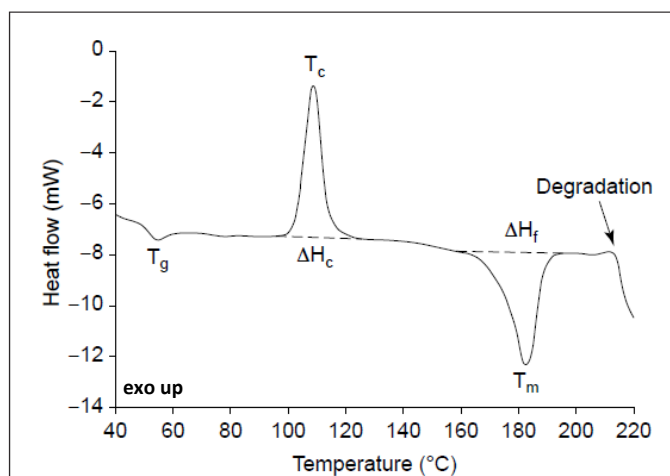


Figura 1.10 - Termograma exemplificativo dos vários eventos térmicos normalmente estudados: transição vítrea, cristalização, fusão e degradação. Imagem adaptada de [27]

1.6. Espectroscopia de Relaxação Dielétrica (DRS)

A Espectroscopia de Relaxação Dielétrica é uma técnica que opera num intervalo de frequências de 10^{-6} a 10^{12} Hz [28] vulgarmente aplicada no estudo do movimento molecular, sendo a ferramenta ideal para analisar a dinâmica vítrea e o transporte de carga de um determinado composto. Os movimentos que conferem dinâmica molecular podem ser descritos por pequenas partes de uma molécula, como grupos funcionais, ou pela molécula como um só todo.

Quando um campo eléctrico oscilante é aplicado a um certo material dieléctrico, isto é, um material não condutor mas que tem a capacidade de armazenar energia de um campo eléctrico aplicado sobre ele [29], através da sua colocação entre dois eléctrodos condutores, as cargas atómicas e moleculares do material vão deslocar-se a partir das suas posições de equilíbrio [28], originando o fenómeno designado por polarização. A polarização consiste então numa orientação forçada das cargas segundo o campo eléctrico aplicado, deixando de estar dispostas de forma aleatória (situação em que o valor da polarização é igual a zero). Por essa razão, todas as medidas dieléctricas têm como pré-requisito a presença de dipolos moleculares na estrutura do material em estudo.

Existem três mecanismos de polarização (ver Figura 1.11) [30]:

- Polarização electrónica ou induzida, a qual responde a alterações do campo a todas as frequências utilizadas de forma quase instantânea. Neste tipo de polarização estão envolvidos efeitos de ressonância.
- Polarização dipolar ou orientacional, a qual descreve os movimentos dos dipolos que, dependendo da frequência a que se submete o dieléctrico, conseguirão ou não acompanhar todas as deslocações associadas às polarizações do campo. Ao contrário da polarização electrónica, a

resposta ao campo eléctrico não é imediata devido à resistência imposta ao momento dipolar e a uma perda irreversível da energia livre na forma de calor.

- Polarização interfacial que se verifica quando ocorre o bloqueio de cargas na interface entre meios de diferentes constantes dieléctricas, sendo que a interface pode situar-se no interior do dieléctrico. Se ocorrer na região de contacto entre o material e o próprio eléctrodo, esta é chamada de polarização de eléctrodo.

É de salientar que, além destes mecanismos de polarização, ocorrem também sob o campo eléctrico movimentos translacionais de cargas que originam a condutividade que será em seguida analisada.

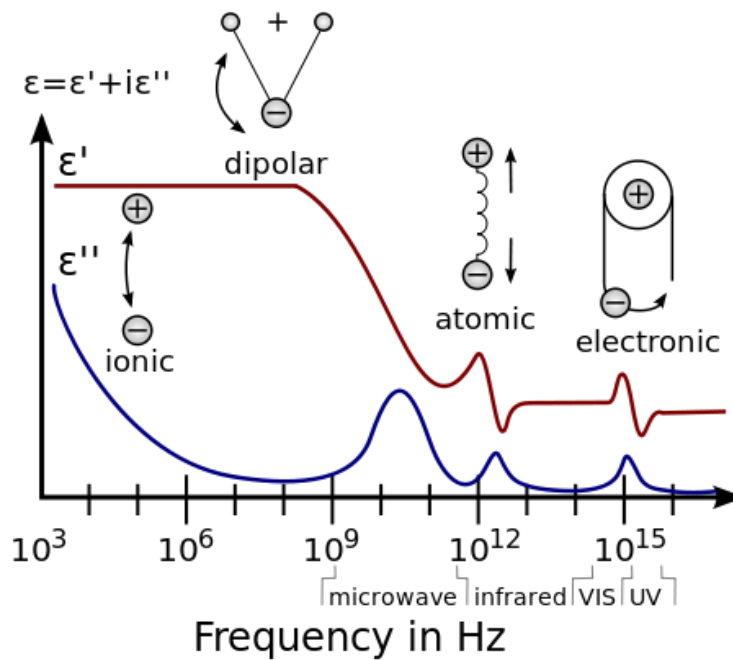


Figura 1.11 - Resposta de dielétricos quando submetidos a diferentes frequências. Imagem adaptada de [29].

A relação entre o estímulo (o campo eléctrico) e a resposta (a polarização) é dada através da constante dieléctrica complexa, ϵ^* . Esta dá origem a diferentes processos, flutuações dos dipolos moleculares, propagação de cargas móveis ou separação de cargas em interface que provocam polarização adicional e é expressa da seguinte forma:

$$\epsilon^*(\omega) = \epsilon'(\omega) - i\epsilon''(\omega) \quad ; \quad (i = \sqrt{-1}) \quad \text{Equação 1}$$

sendo ω a frequência angular que é dada por $\omega = 2\pi f$. A parte real (ϵ') da constante dieléctrica (também designada por permitividade), está relacionada com a energia armazenada pelo material e a parte imaginária (ϵ'') diz respeito à energia dissipada. Os números complexos são uma forma de expressar o desfasamento entre o estímulo e a resposta, uma vez que a relaxação resulta numa resposta atrasada a um estímulo variante. A figura seguinte exemplifica o perfil típico de ϵ' e ϵ'' em função da frequência do campo aplicado. As relaxações (ver secção 1.6.1 da Introdução) podem ser detectadas de duas formas: no pico na parte imaginária ou no ponto de inflexão da curva da equação de permitividade real. O tempo de relaxação (τ) dos dipolos é dado por $\tau = 1/(2\pi f_{\max})$, onde f_{\max} é a frequência no máximo de ϵ'' [28].

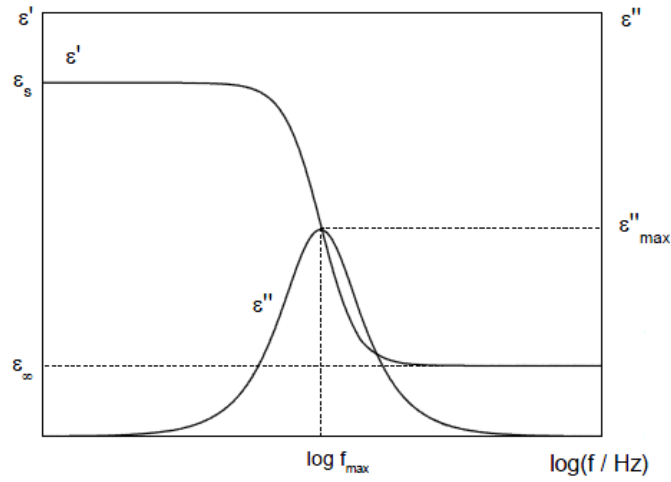


Figura 1.12 – Espectro da permitividade real e imaginária em função da frequência.

Cada relaxação tem um tempo a si associado, sendo este dependente da mobilidade das moléculas (dipolos) que constituem um material. O tempo de relaxação (τ) corresponde ao tempo durante o qual a polarização criada no material pelo campo eléctrico externo decai $1/e$, onde e é o número de Neper, após o campo ser removido. Assim sendo, o tempo de relaxação quantifica o processo durante o qual a distribuição dos dipolos previamente orientados regressa ao equilíbrio, ficando dispostos de forma aleatória.

Quando se aplica uma frequência abaixo da frequência da relaxação do dieléctrico, o campo eléctrico alterno é suficientemente lento para que os dipolos consigam acompanhar as variações a que são submetidos. Neste caso, a polarização e o armazenamento de energia por parte do material sem dissipação. À medida que a frequência aplicada aumenta, o armazenamento de energia, quantificado por ϵ' , começa a diminuir graças ao atraso entre o alinhamento do dipolo e o campo eléctrico. Por outro lado, a energia dissipada do sistema segue um perfil contrário, aumentando a parte imaginária da permitividade. Quando se atingem frequências acima da frequência de relaxação, ambas as componentes deixam de existir, uma vez que o campo eléctrico é demasiado rápido para influenciar a oscilação dos dipolos e a polarização orientacional desaparece completamente [29].

Outra forma de se calcular o tempo de relaxação é através dos ajustes feitos a cada espectro pela equação de Havriliak-Negami que expressa a permitividade complexa através da função descrita pela equação seguinte:

$$\epsilon^*(\omega) = \epsilon_{\infty} + \sum_j \frac{\Delta\epsilon_j}{\left[1 + (i\omega\tau_{HNj})^{\alpha_{HNj}}\right]^{\beta_{HNj}}} \quad \text{Equação 2}$$

onde j é o índice que engloba todos processos de relaxação, ϵ_{∞} é a permitividade dieléctrica a frequências elevadas, $\Delta\epsilon$ é a força dieléctrica, τ_{HN} é o tempo de relaxação característico desta equação, α_{HN} e β_{HN} são parâmetros fraccionários ($0 < \alpha_{HN} < 1$ e $0 < \alpha_{HN}\beta_{HN} < 1$). Esta equação, apesar de estar resolvida em ordem à permitividade complexa, pode ser aplicada a medições feitas em módulo.

No caso em que o material em estudo é bastante condutor, não é possível extrair da permitividade imaginária informação sobre polarização orientacional. Tal deve-se ao facto dos movimentos relacionados com o transporte de cargas influenciarem a permitividade, não permitindo a observação directa de picos. Assim sendo, para se determinar os tempos de relaxação, pode recorrer-se ao módulo complexo, M^* , o qual é determinado a partir do inverso da permitividade ($M^* = 1/\epsilon^*$) [28]. Os tempos de relaxação característicos dos processos que se observam em M'' podem ser estimados a partir da decomposição dos espectros, utilizando uma função semelhante à Havriliak-Negami (Equação 2) (parte imaginária).

No que concerne à condutividade complexa, σ^* , a mesma pode ser igualmente estudada na sua dependência com a temperatura e a frequência. Esta, analogamente à permitividade e ao módulo, tem uma parte real e uma imaginária. A relação com a permitividade complexa é dada por:

$$\sigma^*(\omega) = i\omega \cdot \epsilon_0 \cdot \epsilon^*(\omega)$$

Equação 3

sendo ϵ_0 a permitividade do vácuo. A componente real da condutividade (σ') apresenta um comportamento praticamente universal, tal como se encontra esquematizado na Figura 1.13, tendo um patamar que transita para uma região dispersiva onde o $\log(\sigma')$ aumenta significativamente com a frequência. Na zona das baixas frequências, em que se verifica uma variação da condutividade, surge o efeito de polarização do eléctrodo, o que corresponde a um bloqueio dos transportadores de cargas na interface entre o eléctrodo e o dieléctrico.

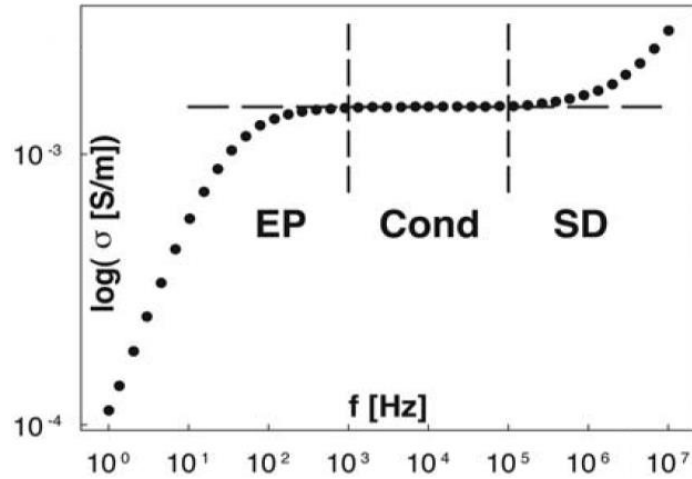


Figura 1.13 - Espectro da condutividade real em função da frequência, onde se encontram representadas três regiões: região de polarização do eléctrodo (EP), região de patamar da condutividade de corrente directa (Cond) e região dispersiva onde ocorre semi-difusão (SD). Imagem retirada de [31].

A partir do patamar visível nas baixas frequências, é possível calcular-se a condutividade de corrente directa (σ_{dc}). Esta pode ser simulada pela equação de Jonscher:

$$\sigma'(f) = \sigma_{dc} \left[1 + \left(\frac{f}{f_{cross}} \right)^s \right]$$

Equação 4

onde s ($0.5 \leq s \leq 1$) é um parâmetro que depende da temperatura e do material, f a frequência linear do campo eléctrico aplicado e f_{cross} a frequência de corte (*cross-over*) que corresponde ao valor que separa o patamar da região dispersiva. Tendo em conta que esta equação não se ajusta à região do espectro que corresponde à polarização do eléctrodo, para ser possível o ajuste, é necessário cortar os pontos dessa zona.

1.6.1. Processos de relaxação

Quando um campo eléctrico actua sobre um dieléctrico, este pode sofrer relaxações de diferentes tipos, devido à polarização orientacional. As diferentes relaxações são nomeadas consoante a temperatura onde emergem e no sentido decrescente da mesma. Se o material estiver no estado de líquido sobrearrefecido, pode ser detectada a relaxação α . Esta relaxação está associada aos movimentos cooperativos entre várias moléculas, ou seja, um conjunto de moléculas que se rearranja de forma coordenada. O número de moléculas que participa nestes movimentos cooperativos aumenta com a diminuição da temperatura, implicando um aumento da energia de activação. Esta relaxação está directamente relacionada com a dinâmica da transição vítrea da amostra, podendo ser usada para estimar o valor da transição vítrea dieléctrica, através da extrapolação da dependência da temperatura para $\tau = 100 \text{ s}^{(3)}$. Por outro lado, se os movimentos não forem cooperativos entre moléculas, mas, sim, de fragmentos de moléculas, a energia necessária para activar o processo é menor, tal como a temperatura necessária para que ele ocorra [28]. A esta relaxação dá-se o nome de β . Ao contrário do processo α , a relaxação β mantém-se activa mesmo quando a amostra se encontra no estado vítreo. A temperaturas inferiores às quais se manifesta o processo β pode emergir uma nova relaxação (γ) relacionada com uma mobilidade ainda mais localizada. A Figura 1.14 esquematiza a região de temperatura nas quais estes processos se manifestam.

Se a análise dos processos de relaxação for efectuada através da parte imaginária do módulo (M''), então, o processo detectado às temperaturas mais elevadas está relacionado com a condutividade e, por isso, é designado por σ [28].

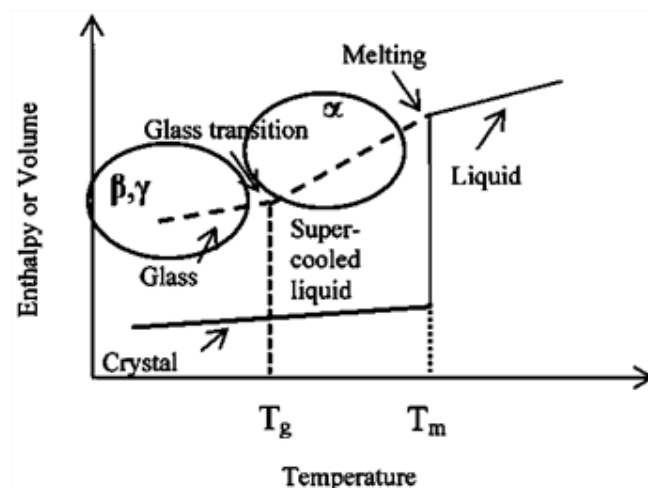


Figura 1.14 – Identificação dos processos α , β e γ em função da temperatura. Imagem adaptada de [32].

⁽³⁾ Este valor é obtido a partir da relação de Maxwell entre a viscosidade (η) e o módulo de cisalhamento (G): $\eta = G\tau$, onde para um sólido η é $\sim 10^{12} \text{ Pa.s}$ e $G \sim 10^{10} \text{ Pa}$, resultando em $\tau = 100 \text{ s}$.

1.7. MCM-41 e SBA-15

Materiais mesoporosos são materiais cujo diâmetro de poro se situa entre os 2 e os 50 nm. Estes materiais são de grande interesse devido à sua elevada área superficial que os torna passíveis de serem usados como catalisadores, moldes para a síntese de nanopartículas, peneiras moleculares ou sistemas para a libertação de drogas. Têm como particularidade o facto de evidenciarem arranjos ordenados de canais e cavidades com diferentes geometrias, confinados entre paredes de sílica [33].

Em 1992, os cientistas da Mobil Corporation descobriram a sílica mesoporosa MCM-41 (*Mobile Crystalline Material No. 41*) [34]. Graças à sua estrutura simples, cilíndrica e com canais de poros hexagonais entre 2 e 10 nm de diâmetro, este material apresenta uma elevada estabilidade térmica, hidrotérmica, química e mecânica. Estas características tornam esta sílica passível de ser usada em inúmeras aplicações, tais como adsorção e separação [33,35].

A preparação da MCM-41 pode ser efectuada através de dois procedimentos diferentes: um primeiro método em que se sugere a adição de silicato às micelas formadas e a polimerização da sílica em torno dessas mesmas micelas [36] e um segundo que propõe a adição do silicato às micelas, tornando-as alongadas e em forma de cilindros. Em ambos os casos, é necessário recorrer ao uso de um agente tensioactivo para adicionar o silicato às micelas, sendo o mais utilizado o brometo de cetiltrimetilamónio (CTAB). Por último, é necessário remover-se o agente tensioactivo que está ligado às micelas para assim se obter MCM-41. Na Figura 1.15, está representado um esquema do segundo método acima descrito.

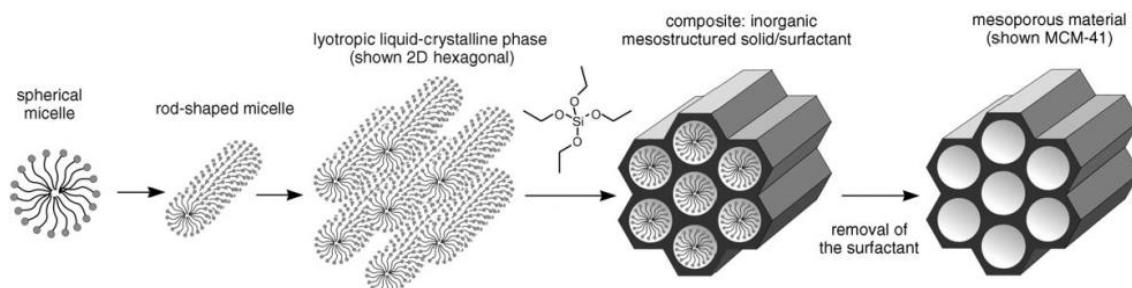


Figura 1.15 - Possível caminho de síntese para a MCM-41. Imagem retirada de [37].

Por outro lado, a sílica mesoporosa SBA-15 (*Santa Barbara Amorphous Material No. 15*) é um material de elevado diâmetro de poro (entre 5 a 30 nm) e apresenta paredes espessas que lhe conferem uma elevada estabilidade térmica. Esta matriz foi criada em 1998 pela equipa de Zhao [34].

No que diz respeito à preparação da SBA-15, a mesma pode ser resumida em quatro passos. O primeiro é a síntese da estrutura mesoporosa através de um copolímero em bloco (por exemplo, P123) e de um precursor em sílica (tal como, TEOS). Os tensioactivos (copolímero P123) são adicionados a uma solução homogénea formada por água destilada e ácido clorídrico. O copolímero forma micelas esféricas na solução e, quando o precursor de sílica é adicionado, este hidrolisa e liga-se às micelas, formando, então, uma rede de sílica que corresponde às paredes das partículas. Nesta altura, as micelas tornam-se alongadas, apresentando a forma de cilindros. O segundo passo é o tratamento hidrotérmico a uma temperatura superior à da etapa anterior. A filtração e a lavagem correspondem ao terceiro passo, sendo que o quarto é a remoção do polímero por calcinação. Em baixo, encontra-se esquematizado o processo de formação desta sílica.

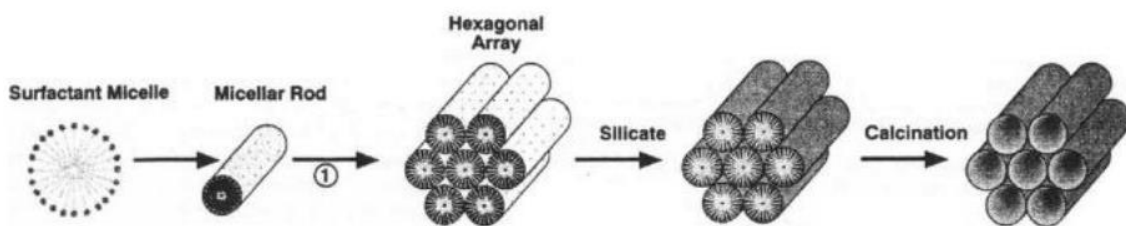


Figura 1.16 - Possível caminho de síntese para a SBA-15. Imagem retirada de [36].

Neste trabalho, para a sintetização das matrizes de sílica, foi utilizado aerosil como fonte de sílica e brometo de alquiltrimetilamónio como molde. A calcinação foi efectuada a uma taxa de aquecimento de 1K/min até 813 K para garantir a remoção do molde. Esta tarefa foi uma colaboração do grupo de acolhimento com a Professora Isabel Fonseca da FCT-UNL. É de notar que as condições de síntese destes materiais são críticas para a replicação do processo, uma vez que pequenas alterações, como uma leve mudança na temperatura, podem resultar em modificações na morfologia, estrutura de poro e diâmetro do mesmo.

1.8. Confinamento

Estados de energia interna mais elevados, assim como materiais totalmente amorfos ou cristais metaestáveis são caracterizados por uma desordem intrínseca que pode acelerar a dissolução e, por consequente, aumentar a biodisponibilidade e a actividade terapêutica de um princípio activo [38-40]. No entanto, a elevada instabilidade associada a esses estados [41] faz com que seja necessário definir uma estratégia para os estabilizar e tornar passíveis de serem usados na indústria farmacêutica. Nesse contexto, o confinamento em geometrias da ordem da nano-escala, apelidado de nanoconfinamento, surgiu nos últimos anos como sendo uma possível solução para estabilizar formas, que de outro modo seriam instáveis, de compostos moleculares e, em particular, fármacos [8,42]. Após a supressão da cristalização, é obtido um líquido sobrearrefecido nanoconfinado que pode ter uma maior mobilidade em relação ao material natural. Esta aceleração na dinâmica deve-se ao efeito da interferência entre o tamanho do poro e a dimensão característica para a dinâmica da transição vítrea, que pode diminuir a temperatura desse evento ou até mesmo eliminá-lo, alargando o intervalo do estado sobrearrefecido do princípio activo confinado em comparação com o original [43,44]. Contudo, para tamanhos de poros baixos, as moléculas do fármaco podem sofrer interações com as paredes do poro, como já foi demonstrado para os sistemas que formam ligações através de pontes de hidrogénio entre o fármaco e o poro interno, fazendo com que a dinâmica molecular seja atrasada [45]. Em consequência, a dinâmica de moléculas confinadas em nanoporos é controlada pelo confinamento propriamente dito e os efeitos de superfície. Tal foi demonstrado recentemente por alguns investigadores do grupo de acolhimento através de Espectroscopia de Relaxação Dielétrica que permitiu estudar a mobilidade molecular do composto Triton X-100 que permaneceu amorfo 17 meses [46] após o seu confinamento e do ibuprofeno que se mantém igualmente amorfizado há mais de dois anos [47]. Por outro lado, em certas geometrias e dimensões de confinamento, as moléculas hóspedes são incapazes de formar uma estrutura cristalina, sendo, portanto, uma estratégia adequada para evitar a cristalização [48].

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

Tal como foi referido anteriormente, o presente trabalho teve como objectivo aumentar a solubilidade de dois fármacos, a sinvastatina e o naproxeno. Na Tabela 2.1, encontram-se resumidas algumas das suas características físicas:

Tabela 2.1 - Informações acerca dos fármacos estudados.

	Sinvastatina	Naproxeno
Fórmula química	C ₂₅ H ₃₈ O ₅	C ₁₄ H ₁₄ O ₃
Massa molar	418.6 g/mol	230.3 g/mol
Estado físico	Pó branco/cristalino	Pó branco/cristalino
Solubilidade - H ₂ O	1.22x10 ⁻² g/l	5.11x10 ⁻² g/l
Solubilidade - EtOH	> 25 g/l	> 25 g/l
Ponto de fusão	135~138°C	153°C
Transição vítrea - T _g	~ 35°C	~ 6°C
Número CAS	79902-63-9	22204-53-1
Marca ; Pureza	Mepha Lda ; ≥ 99%	Sigma-Aldrich ; 98%

De modo a tentar aumentar a solubilidade da sinvastatina e do naproxeno, combinaram-se os mesmos com duas matrizes de sílica, sendo que o diâmetro do poro era a única variável, e com um polímero. Em baixo, encontram-se as características das sílicas utilizadas:

Tabela 2.2 - Informações acerca das sílicas utilizadas.

	Diâmetro de poro	Volume de poro
MCM-41	3.2 nm	1.03 cm ³ /g
SBS-15	5.9 nm	1.09 cm ³ /g

Nota: O tamanho do poro foi determinado através do método de desorção BJH.

2.1.1. Preparação das amostras

Ao longo do estágio, foram preparadas diversas amostras que se encontram resumidas nas Tabela 2.3 e Tabela 2.4. Os procedimentos experimentais seguidos em cada um dos ensaios estão em baixo das respectivas tabelas.

Tabela 2.3 - Amostras preparadas utilizando as sílicas como matrizes.

	Sílica	Fármaco	Solvente	Proporção	Técnica
Ensaio 1	100 mg (SBA-15)	50 mg (Sinvastatina)	5 ml (EtOH)	2:1	Convencional
Ensaio 2	100 mg (MCM-41)	100 mg (Sinvastatina)	5 ml (EtOH)	1:1	Convencional
Ensaio 3	100 mg (MCM-41)	200 mg (Sinvastatina)	5 ml (EtOH)	1:2	Convencional
Ensaio 4	100 mg (SBA-15)	50 mg (Naproxeno)	5 ml (EtOH)	2:1	Convencional
Ensaio 5	100 mg (SBA-15)	10 mg (Sinvastatina)	scCO ₂	10:1	Fluido supercrítico
Ensaio 6	106 mg (MCM-41)	106 mg (Naproxeno)	2.5 ml (EtOH)	1:1	Vácuo
Ensaio 7	70 mg (MCM-41)	50 mg (Naproxeno)	2 ml (CHCl ₃)	1.5:1	Vácuo

Nota: Os ensaios 1, 2, 3 e 5 não prosseguiram para análise.

Preparação das amostras impregnadas sílica:

Activação das sílicas: Antes de qualquer confinamento, é necessário uma etapa que tem como objectivo remover as moléculas de água e outras impurezas que possam estar dentro dos poros da sílica. Assim, submeteu-se a sílica a uma temperatura de 150°C, sob vácuo (10^{-4} mbar), durante oito horas. Em seguida, deixou-se arrefecer à temperatura ambiente e colocou-se a sílica numa linha de azoto a 950 mbar, mantendo a célula fechada até à sua utilização.

Ensaio 1 a 4: A um copo de vidro adicionou-se uma determinada quantidade de sílica, fármaco e etanol (ver Tabela 2.3). Em seguida, tapou-se com parafilme e deixou-se a solução a agitar durante 24 horas. Em seguida, filtrou-se sob vácuo a amostra, utilizando um filtro de 150 mm. No caso do primeiro ensaio, o conteúdo que ficou no copo foi lavado com duas pequenas porções não medidas de etanol para remover todos os resíduos. Nas restantes preparações, este passo foi suprimido e passou-se logo o filtro com a sílica e o princípio activo para uma caixa de Petri que foi colocada numa estufa de vácuo durante cinco horas e depois no exsiccador. Após todos estes passos, sujeitou-se o composto resultante a um procedimento térmico que permite estudar as diferenças relativamente ao fármaco nativo.

Ensaio 5: Num *ependorf*, tapado com parafilme perfurado, adicionou-se 10 mg de sinvastatina e um agitador. Dentro da célula de alta pressão, colocou-se o *ependorf* e 100 mg de sílica. Em seguida, pressurizou-se a célula com CO₂ supercrítico a 200 bar durante sete horas. Durante esse tempo, a preparação ficou num banho de água aquecido a 40°C. Por fim, retirou-se o produto da linha e procedeu-se ao estudo térmico da amostra resultante.

Ensaio 6 e 7: Para se confinar um fármaco sob vácuo, é necessário colocar previamente uma célula com sílica na linha de vácuo durante alguns dias, sendo que, nestes ensaios, deixou-se o conjunto a secar durante 76 horas. Ainda com a célula sob vácuo, adicionou-se uma certa quantidade de naproxeno dissolvido. Uma vez retirado o vácuo, colocou-se a mistura em agitação e aqueceu-se um pouco o suporte. Este passo foi efectuado até à evaporação total do solvente, o que demorou cerca de vinte dias para o caso do etanol e três dias para o clorofórmio. Em seguida, procedeu-se à caracterização térmica das amostras obtidas.

Tabela 2.4 - Amostras preparadas utilizando o polímero como matriz.

	Polímero	Sinvastatina	Etanol	Proporção	Suporte
Ensaio 1	119.84 mg	64.22 mg	2 ml	2:1	Caixa de Petri
Ensaio 2	136.50 mg	39.95 mg	3 ml	3:1	Caixa de Petri
Ensaio 3	84.40 mg	21.88 mg	3 ml	4:1	Frasco
Ensaio 4	71.40 mg	7.61 mg	scCO ₂	10:1	<i>Eppendorf</i>

Preparação das amostras impregnadas no polímero:

Ensaio 1 a 3: Pesou-se uma determinada quantidade de polímero para um suporte e adicionou-se a massa de sinvastatina e o volume de etanol correspondentes para cada uma das proporções (ver Tabela 2.4). Em seguida, colocou-se a preparação em agitação até o solvente evaporar e à temperatura ambiente. No primeiro ensaio, este passo demorou uma noite, enquanto que o segundo precisou de duas noites e o terceiro de seis. Para garantir a eliminação total do etanol, secou-se cada uma das amostras na estufa a 40°C durante seis horas e no vácuo durante trinta minutos. Em seguida, procedeu-se à caracterização térmica das mesmas.

Ensaio 4: Num *ependorf*, tapado com parafilme perfurado, colocou-se 7.61 mg de sinvastatina e noutro, exactamente nas mesmas condições, adicionou-se a quantidade correspondente de polímero (71.40 mg). Depois colocaram-se ambos os *ependorfs* na célula de alta pressão, sendo que o *ependorf* do polímero ficou em cima do da sinvastatina. Em seguida, pressurizou-se a célula com CO₂ supercrítico a 200 bar durante cinco horas. Durante esse tempo, a preparação ficou num banho de água aquecido a 40°C. Por fim, retirou-se o produto da linha e procedeu-se ao estudo térmico da amostra resultante.

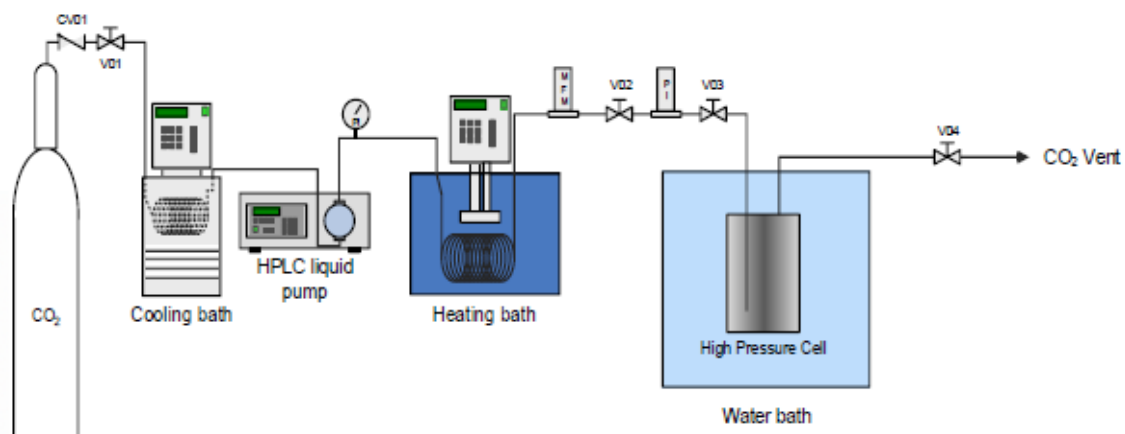


Figura 2.1 - Linha de montagem usada nos ensaios efectuados com o scCO₂.

2.2. Métodos

2.2.1. Calorimetria Diferencial de Varrimento

Para caracterizar as transformações de fase das amostras, utilizou-se um calorímetro do modelo DSC Q2000 da TA Instruments com um sistema de refrigeração RCS 90. Os ensaios foram realizados com diferentes intervalos de temperatura, dependendo da amostra em estudo. Para a realização dos varrimentos, pesou-se uma quantidade de amostra que variou entre os 3 e os 6 mg. As amostras foram medidas em cápsulas herméticas de alumínio, seladas, mas furadas para facilitar a possível saída de solvente ou de água. Como referência, foi usada uma cápsula do mesmo material que permaneceu vazia ao longo dos varrimentos. Para calibrar a temperatura e o fluxo de calor do aparelho, utilizou-se um disco de índio entre 100 e 180°C. No entanto, para a calibração da constante de entalpia e capacidade calorífica, recorreu-se a um disco de safira, sendo que a calibração foi feita no seguinte intervalo de temperaturas: -90 e 350°C. Os dados obtidos foram analisados e tratados no *software* Universal Analysis 2000 da TA Instruments.

2.2.2. Espectroscopia de Relaxação Dielétrica

As medições dielétricas foram efectuadas no analisador de impedância ALPHA-N da Novocontrol GmbH. Na montagem da amostra, colocou-se uma porção da mesma entre dois eléctrodos de ouro com 1 cm de diâmetro e para os separar foram inseridos dois espaçadores cilíndricos de sílica com 50 µm de espessura. Estes separadores, para além de garantirem que a distância entre os dois eléctrodos é constante durante os ensaios, têm como principal função a de impedir que haja contacto entre os eléctrodos. Em seguida, montou-se o conjunto acima descrito, e que equivale a um condensador paralelo, num porta-célula denominado de BDS 1200. Esta célula foi colocada no crióstato BDS 1100 e exposta a um fluxo de azoto líquido que regulou a temperatura da amostra. O controlo térmico foi assegurado pelo Quatro Cryosystem, cuja precisão ronda os 0.01°C. Todos os módulos acima mencionados foram fornecidos pela marca Novocontrol, enquanto que o controlo de temperatura e a aquisição de dados ficaram ao cargo do *software* WinDETA. Aquando a análise dos dados, recorreu-se ao programa WinFIT no qual os dados das medidas isotérmicas foram inseridos individualmente no modo de texto e analisados com as diferentes funções presentes na Introdução (ver secção 1.6).

2.2.3. Microscopia de Luz Polarizada

Com o intuito de se obter imagens dos fenómenos térmicos associados ao naproxeno, recorreu-se à microscopia de luz polarizada. Esta técnica foi realizada num microscópio óptico Olympus BX51 equipado com um crióstato de azoto líquido Linkam LTS360 que permite a variação da temperatura entre -90°C e 170°C. Para se captar as imagens e monitorizar a amostra, utilizou-se uma câmara fotográfica da Olympus, cujo modelo era o C5060. Na preparação da amostra, colocou-se uns miligramas de naproxeno puro entre a lâmina e a lamela, mantendo uma espessura aproximada de 50 µm. Estes ensaios foram efectuados no Instituto Superior Técnico da Universidade de Lisboa.

3. Apresentação e Discussão dos Resultados

Neste capítulo, os resultados estão organizados de acordo com o fármaco que se tentou amorfizar: sinvastatina e naproxeno. Os dados serão expostos e discutidos para cada uma das técnicas exploradas, dando especial ênfase à Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC) e à Espectroscopia de Relaxação Dielétrica (DRS).

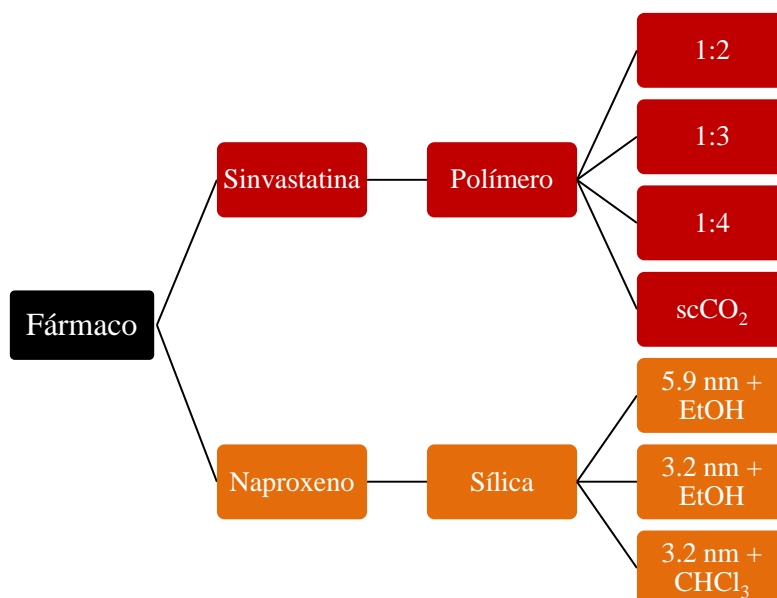


Figura 3.1 - Esquema ilustrativo de todas as amostras preparadas, analisadas e apresentadas nesta secção.

3.1. Sinvastatina/Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA)

Antes de se proceder ao estudo das diversas misturas, é necessário compreender todos os fenómenos térmicos associados aos compostos nativos, pelo que se procedeu à caracterização por calorimetria diferencial de varrimento do princípio activo e da matriz em separado. No que diz respeito à espectroscopia de relaxação dielétrica, analisou-se apenas o polímero termo-responsivo (Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA)) puro, visto que a sinvastatina já tinha sido estudada previamente no laboratório.

3.1.1. Sinvastatina nativa

Para caracterizar termicamente a sinvastatina, programou-se o calorímetro de acordo com o tratamento térmico presente na Figura 3.2. Dois ciclos de arrefecimento e aquecimento entre -90°C e 40°C foram inicialmente programados. No fim do segundo ciclo, a temperatura final foi de 150°C para garantir a fusão da sinvastatina. Em seguida, arrefeceu-se a amostra até -90°C e aqueceu-se de novo a 150°C. A velocidade manteve-se sempre a 10°C/min.

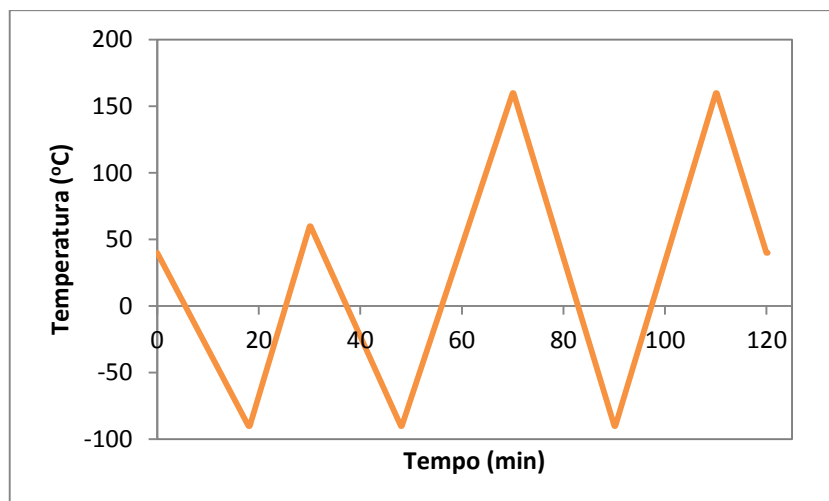


Figura 3.2 - Método utilizado na caracterização da sinvastatina nativa, sendo a velocidade de aquecimento igual à de arrefecimento (10°C/min).

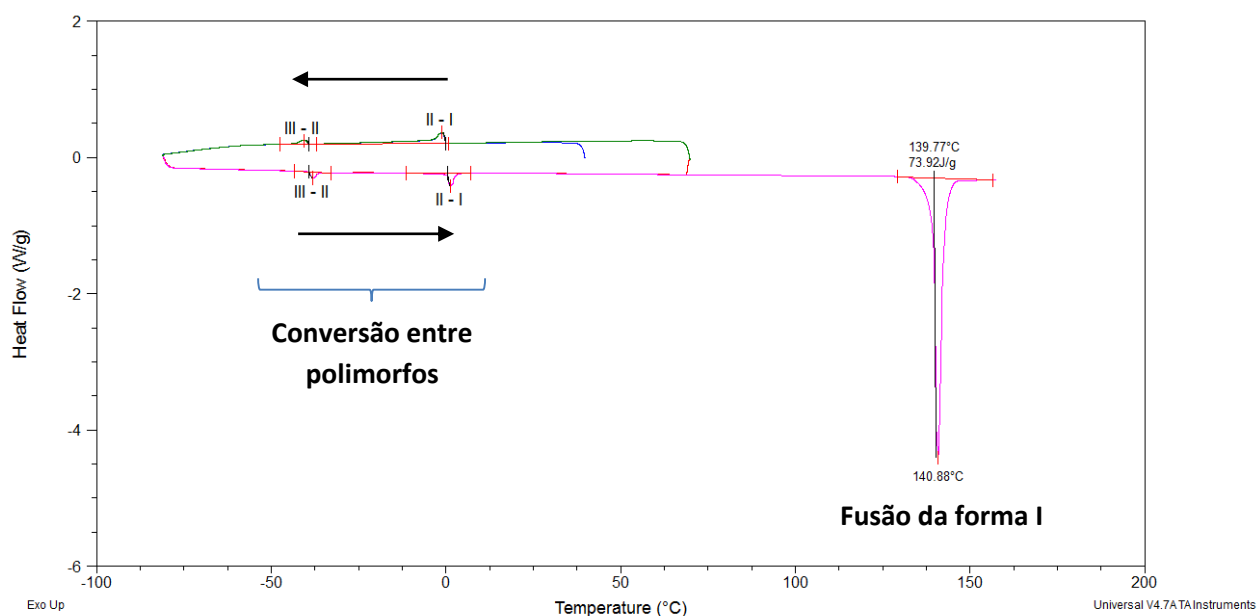


Figura 3.3 - Termograma da sinvastatina nativa, evidenciando os quatro passos estudados.

No termograma registado para a sinvastatina (Figura 3.3), na região de temperaturas mais baixas surgem dois picos exotérmicos no primeiro arrefecimento (linha verde) e dois picos endotérmicos no aquecimento posterior (linha cor-de-rosa). A localização, em temperatura, de cada pico endotérmico é muito próxima dos picos exotérmicos, levando a crer que se trata de fenómenos correspondentes e inversos. Na literatura [49], este tipo de comportamento encontra-se descrito para a sinvastatina, sendo atribuído à conversão entre polimorfos (assinalada sobre cada pico). De facto, esses polimorfos são descritos como sendo enantiotrópicos, isto é, o processo de transformação entre uma forma e a outra é reversível, o que é confirmado pela detecção de eventos térmicos associados a cada uma das conversões tanto no ciclo de arrefecimento como no de aquecimento.

Tabela 3.1 - Temperatura de conversão e entalpia associadas aos polimorfos da sinvastatina.

	I → II	II → III	III → II	II → I
Temperatura (°C)	-1.1	-40.6	-38.1	1.2
Entalpia (J/g)	7.32*	1.01	1.08	7.70*

* Valores estimados pela diferença entre a entalpia global de exotérmicos (8.33 J/g) e endotérmicos (8.78 J/g) e entalpia de conversão de II → III e III → II.

Como se pode observar na Tabela 3.1, a conversão entre a forma I e II ocorre perto dos 0°C, enquanto que o polimorfo III é originado a ~-40°C. Por fim, verifica-se um pico de fusão muito pronunciado do polimorfo I da sinvastatina cristalina por volta dos 140°C; este é o único pico detectado se a amostra for levada directamente a 160°C, demonstrando que o produto comercializado se encontra na forma I. No arrefecimento posterior, já não foi detectado qualquer fenómeno exotérmico devido a cristalização da forma I ou conversão entre formas cristalinas, tendo sido unicamente observada uma descontinuidade no fluxo de calor próximo dos 30°C e que se deve à transição vítrea (ver Figura 3.4). A temperatura de *onset* à qual ocorre a transição vítrea, 35.3°C, encontra-se em excelente acordo com a da literatura [50].

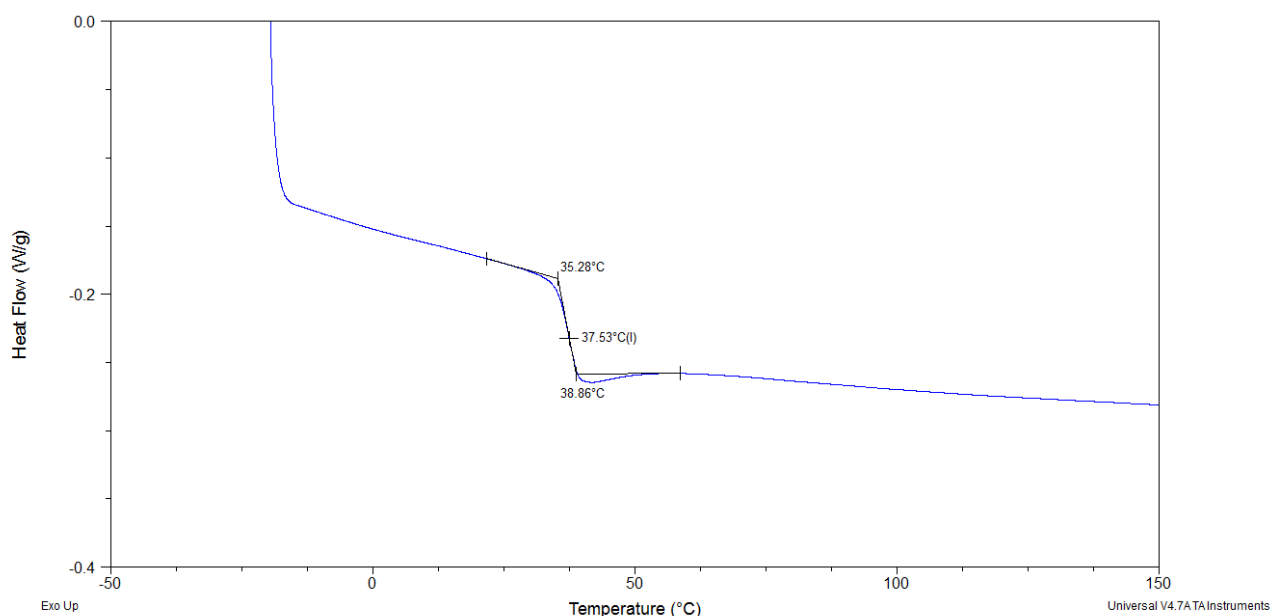


Figura 3.4 - Termograma da sinvastatina nativa obtido em aquecimento a 10°C/min, evidenciando a sua transição vítrea.

3.1.2. Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo

3.1.2.1. Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC)

A nível das matrizes, as sílicas foram estudadas no intervalo de -90°C a 150°C, onde não apresentaram nenhum evento térmico. No que respeita ao polímero, este foi analisado nas mesmas temperaturas, tendo os 150°C sido escolhidos com vista na mistura posterior com a sinvastatina ($T_m = 140^\circ\text{C}$).

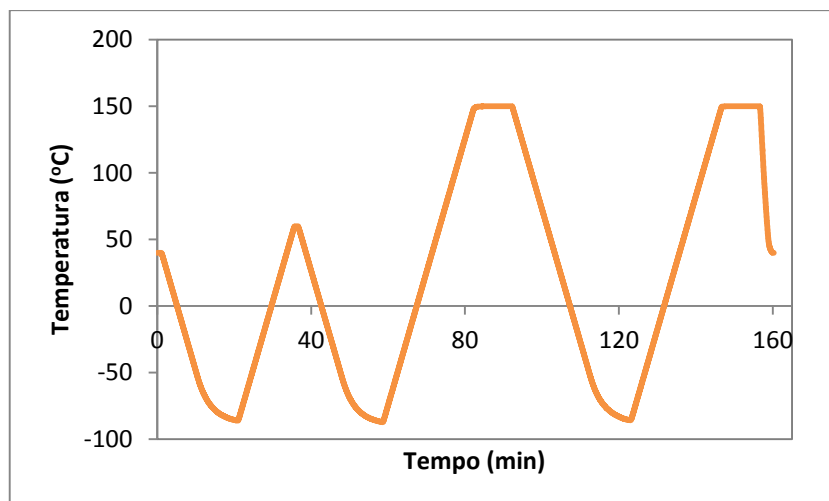


Figura 3.5 - Método utilizado na caracterização do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo, sendo a velocidade de aquecimento igual à de arrefecimento (10°C/min).

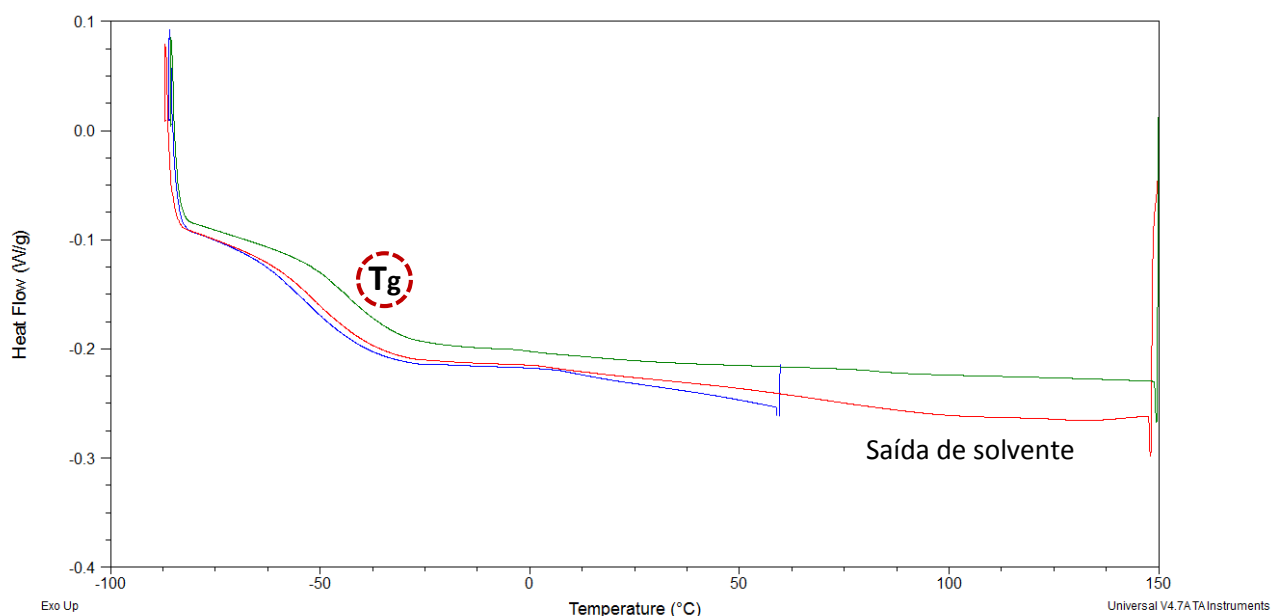


Figura 3.6 - Termograma do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo, evidenciando todos os aquecimentos estudados.

Analisando o comportamento térmico do polímero, determinou-se que o mesmo se encontra no estado amorfo, pois não apresenta nenhuma fusão nem cristalização. A detecção da transição vítrea desde o primeiro ciclo confirma este facto.

Tabela 3.2 - Resumo das temperaturas de transição vítrea do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA).

	Tg _{onset} (°C)	Tg _{midpoint} (°C)	Tg _{endpoint} (°C)
1º aquec. (azul)	-61.9	-52.6	-40.0
2º aquec. (vermelho)	-59.4	-52.9	-37.7
3º aquec. (verde)	-51.7	-43.1	-33.9

A Tabela 3.2 evidencia os vários valores obtidos para a transição vítrea. Nos três casos, observou-se uma variação no valor da temperatura de transição vítrea. Tal demonstra a existência

de efeito plastificante, ou seja, à medida que a água vai sendo removida da amostra, o polímero diminui o seu volume livre, aumenta a força das interações intermoleculares e reduz a mobilidade das moléculas do polímero, o que resulta na variação da temperatura de transição vítrea para valores mais elevados. Verificou-se também que a diferença de temperatura entre a T_{g_onset} do primeiro aquecimento para a do segundo é de apenas $\sim 2^{\circ}\text{C}$, enquanto que a diferença entre a T_{g_onset} do segundo ciclo para a do terceiro é de quase 8°C . Tal deve-se ao facto da água não ter sido removida totalmente no primeiro aquecimento, sendo que só no último é que a amostra se encontra totalmente seca. Por outro lado, as análises térmicas provam que polímero não se degrada até 150°C , o que facilita os estudos desenvolvidos com a sinvastatina.

3.1.2.2. Espectroscopia de Relaxação Dielétrica (DRS)

Nos ensaios dielétricos, o Poli-($\text{MEO}_2\text{MA-co-OEGMA}$) nativo foi inicialmente aquecido até 60°C e mantido a essa temperatura durante 30 minutos. Em seguida, arrefeceu-se a amostra até -120°C e procedeu-se então à aquisição de várias isotérmicas até 100°C . Nesse intervalo de temperaturas, foram detectados vários processos de relaxação e uma elevada condutividade do polímero, tendo esta última sido registada até -60°C . Devido à influência desta propriedade nos espectros de ϵ'' , estes foram analisados utilizando a representação da condutividade, σ' (f). Para se obter informação relativa à condutividade de corrente directa (σ_{dc}), os espectros foram analisados através de dois métodos: extrapolação do valor da condutividade σ_{dc} para baixas frequências e ajuste das isotérmicas da condutividade pela equação de Jonscher (Equação 4). Na Figura 3.7, encontram-se representadas algumas isotérmicas colectadas para o polímero na parte real da condutividade.

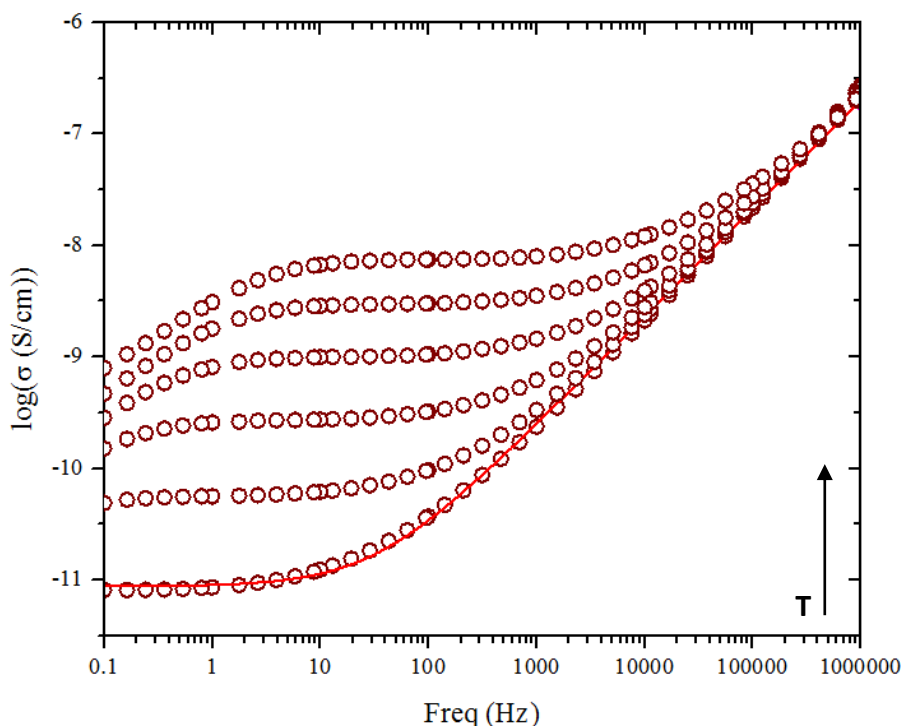


Figura 3.7 - Espectros da componente real da condutividade, σ' , colectados de 10 em 10°C num intervalo de temperaturas entre 0 e -50°C , para o Poli-($\text{MEO}_2\text{MA-co-OEGMA}$) nativo. A linha vermelha indica um ajuste feito pela equação de Jonscher.

A determinação da condutividade de corrente directa é feita no intervalo de frequências em que o σ' não é influenciado pela polarização do eléctrodo, sendo este efeito visível por uma diminuição do $\log(\sigma')$ na região de baixas frequências. Por exemplo, as isotermicas colectadas a 0 e -10°C, correspondentes às duas primeiras curvas da Figura 3.7, apresentam esse efeito a partir dos 10 Hz. Para temperaturas muito negativas, a zona referente à acumulação de cargas é suprimida. Por outro lado, a temperaturas mais baixas, o intervalo de frequências onde é possível extrapolar o σ_{dc} é menor do que a temperaturas mais altas, ou seja, um material vai perdendo condutividade à medida que se arrefece a amostra. No caso do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA), foi possível determinar a condutividade de corrente directa até -60°C, o que permite concluir que o material em estudo é bastante condutor.

Tendo em conta que os valores obtidos directamente do patamar da corrente directa (σ_{dc} (T)) revelaram uma extrema concordância com os estimados a partir da equação de Jonscher (Equação 4), o mapa de condutividade, que representa a dependência da condutividade de corrente directa com o inverso da temperatura, presente na figura seguinte apenas apresenta os resultados ajustados matematicamente.

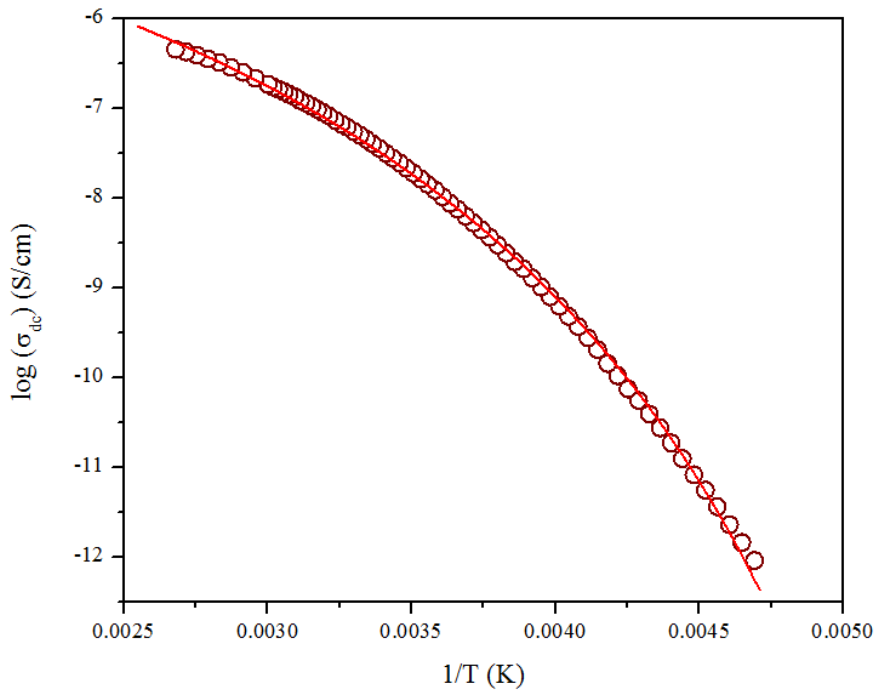


Figura 3.8 - Mapa de condutividade do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo. A linha vermelha corresponde ao ajuste feito através da equação de VFT.

O comportamento curvilíneo observado pode ser ajustado segundo equação de Vogel-Fulcher-Tammann adaptada para a componente real da condutividade (Equação 5).

$$\sigma'(T) = \sigma_{\infty} \exp\left(\frac{-B_c}{T - T_{0c}}\right) \quad \text{Equação 5}$$

onde σ_{∞} e B_c são constantes estimadas para a condutividade real e T_{0c} é a temperatura de Vogel também relativa à condutividade. Assim sendo, calcularam-se os parâmetros apresentados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Parâmetros obtidos pela equação de Vogel-Fulcher-Tammann aplicada à condutividade de corrente directa do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo.

Processo	ΔT (°C)	$-\log(\sigma_{\infty})$ (S/cm)	σ_{∞} (S/cm)	B (K)	T ₀ (K)
$\log(\sigma_{dc})$	[100,-60]	-3.76	5.5×10^3	1277.9	146.9

Graças à elevada condutividade do material, ao invés de se estudar a permitividade complexa da matriz, a resposta dielétrica foi analisada através da representação do módulo eléctrico. Algumas isotérmicas colectadas para a parte imaginária do módulo, M'' , encontram-se representadas na Figura 3.9.

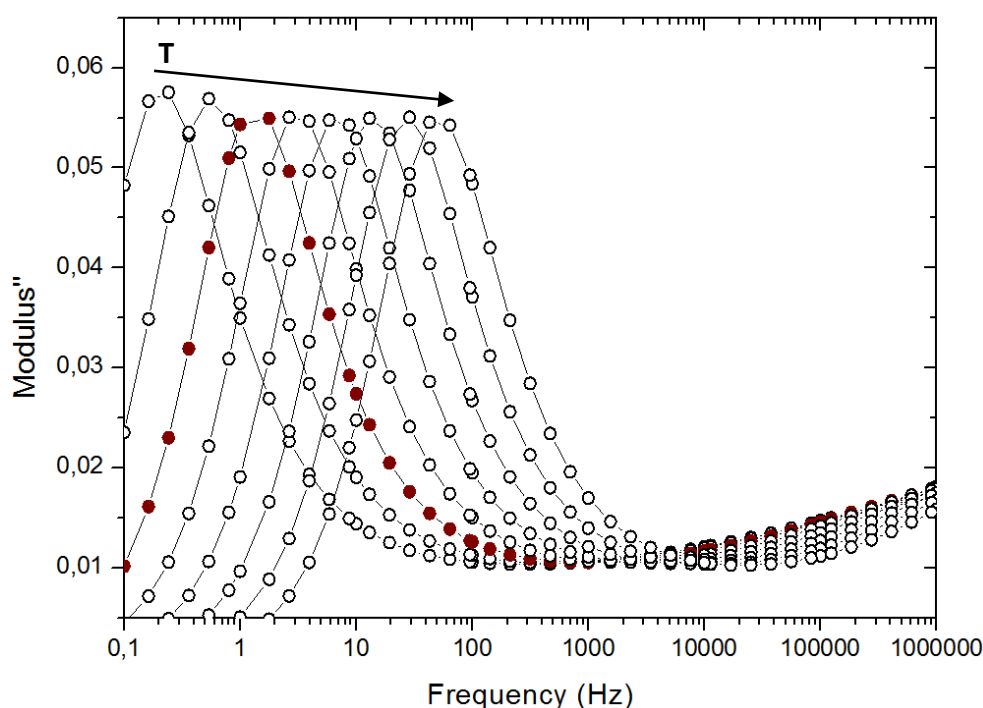


Figura 3.9 - Espectros da componente imaginária do módulo dielétrico, M'' , entre -60 e -32°C, colectadas para o Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo. A isotérmica representada por círculos vermelhos representa a temperatura de transição vítrea calorimétrica (-52°C) do polímero.

Através da Figura 3.9, observou-se que o pico característico da mobilidade associada à transição vítrea do polímero emerge a temperaturas mais baixas que a transição correspondente detectada por calorimetria (isotérmica salientada a vermelho). Tal demonstra que o tratamento térmico previamente aplicado com o intuito de remover toda a água (30 minutos a 60°C) não foi bem-sucedido. Apesar disso, procedeu-se com a análise dos espectros.

Para a construção do mapa de relaxação, que representa a dependência dos tempos característicos moleculares com o inverso da temperatura, cada espectro foi decomposto através de um somatório de equações de Havriliak-Negami (Equação 2). Na Figura 3.10, está ilustrado o processo de *fitting* da isotérmica colectada a 22°C, sendo que a linha azul representa o ajuste global resultante da adição de duas funções individuais Havriliak-Negami (linhas cor-de-rosa).

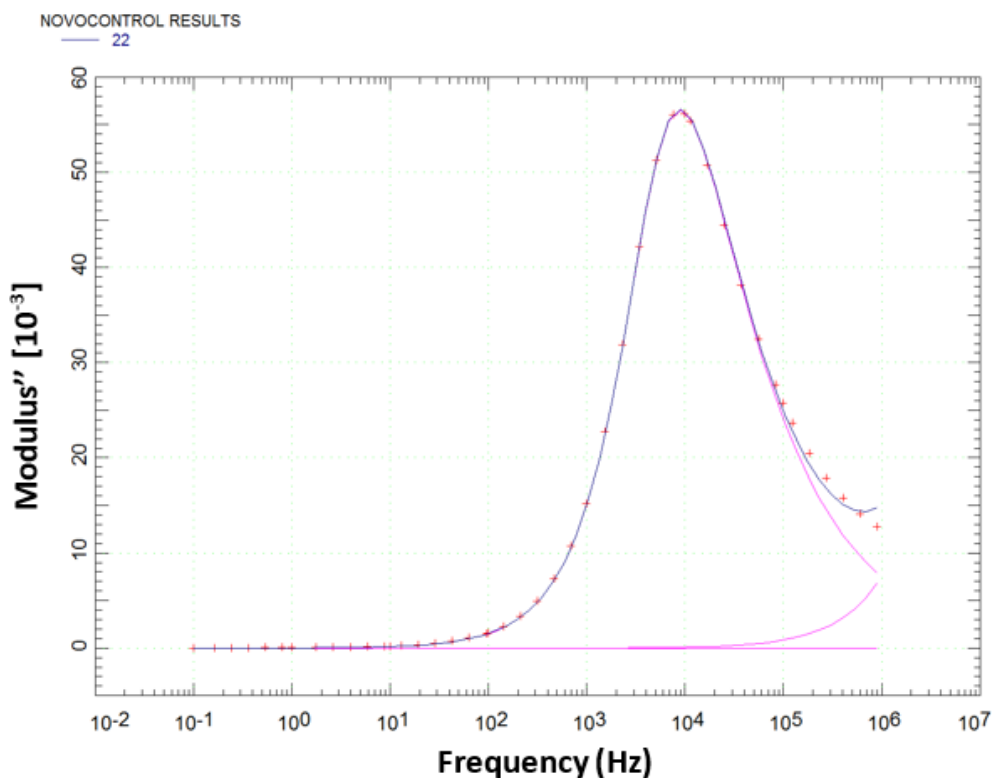


Figura 3.10 - Isotérmica (22°C) do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo ajustada no M'' , através da equação Havriliak-Negami.

Da posição do máximo de cada pico, em frequência, é possível estimar os tempos de relaxação para cada isotérmica. Os tempos de relaxação (τ_{\max}) assim extraídos encontram-se representados na Figura 3.11 em função do inverso da temperatura absoluta.

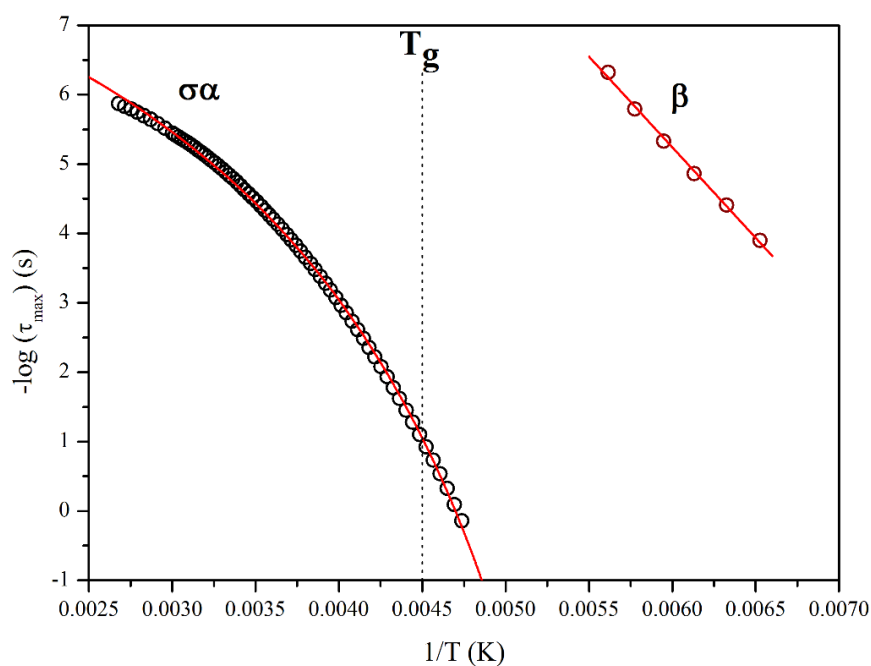


Figura 3.11 - Mapa de relaxação do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo. As linhas vermelhas correspondem aos ajustes feitos através da equação de VFT (processo $\sigma\alpha$) e da equação de Arrhenius (processo β). A linha vertical a tracejado indica T_{g_onset} estimada por medidas calorimétricas.

Na região sub-vítrea (a linha a tracejado indica a T_g estimada pelo DSC), uma relaxação secundária (β) foi detectada com uma dependência linear da temperatura. Este comportamento, descrito pela equação de Arrhenius (Equação 6), é típico da mobilidade localizada. A partir dos parâmetros obtidos pelas regressões lineares, a energia de activação e o factor pré-exponencial da lei arrheniana podem ser estimados, de acordo com a seguinte equação:

$$\tau(T) = \tau_{\infty} \exp(E_a/RT) \quad \text{Equação 6}$$

onde E_a é a energia de activação e R a constante universal de gases perfeitos. Os valores assim calculados encontram-se apresentados na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Resumo dos processos simulados para o Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo.

Processo	ΔT (°C)	$-\log(\tau_{\infty})$ (s)	τ_{∞} (s)	B (K)	T_0 (K)	E_a (kJ/mol)	α_{HN} β_{HN}
$\sigma\alpha$	[100,-62]	8.46	3.43×10^{-9}	1290.0	146.7	---	$\frac{1}{1}$
β	[-95,-120]	20.91	1.23×10^{-21}	---	---	50.0	0.150 ± 0.02 $0.622 \rightarrow 0.977$

Acima da temperatura de transição vítrea calorimétrica, surge o segundo processo detectado neste material: $\sigma\alpha$. Este processo está relacionado com a dinâmica de transição vítrea, mas altamente influenciado pela condutividade. Tendo em conta que processo $\sigma\alpha$ segue um perfil curvilíneo, recorreu-se à lei de Vogel-Fulcher-Tammann (VFT) para se determinar os restantes parâmetros presentes na Tabela 3.4.

$$\tau(T) = \tau_{\infty} \exp\left(\frac{B}{T - T_0}\right) \quad \text{Equação 7}$$

onde τ_{∞} e B são constantes e T_0 é a chamada temperatura de Vogel, também designada por temperatura de transição vítrea ideal [28]. Este tipo de dependência com a temperatura ($1/T$) dos tempos de relaxação ($-\log(\tau)$) é com frequência encontrado nos movimentos associados à transição vítrea. Neste caso, tratando-se de um material com condutividade elevada nesta região, é razoável admitir que o processo detectado tem contribuição dos movimentos cooperativos e daqueles responsáveis pela condutividade. Utilizando essa equação, estimou-se para $\tau = 100$ s uma temperatura de transição vítrea de -73.2°C , a qual não se encontra num acordo razoável com a T_g calorimétrica obtida em qualquer aquecimento. Esta discrepância deve-se muito provavelmente ao facto do processo σ estar acoplado à relaxação α .

3.1.3. Sinvastatina impregnada no Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA), utilizando scCO₂ como solvente

Antes de se estudar termicamente o efeito do scCO₂ na impregnação da sinvastatina no polímero, procedeu-se à comparação dos compostos puros e sem tratamento com os submetidos ao fluido supercrítico. Observou-se que todos os efeitos térmicos coincidem, pelo que o scCO₂

não interfere no comportamento térmico do polímero nem da sinvastatina. No que diz respeito ao método utilizado na caracterização do compósito, o mesmo apresenta-se na Figura 3.12.

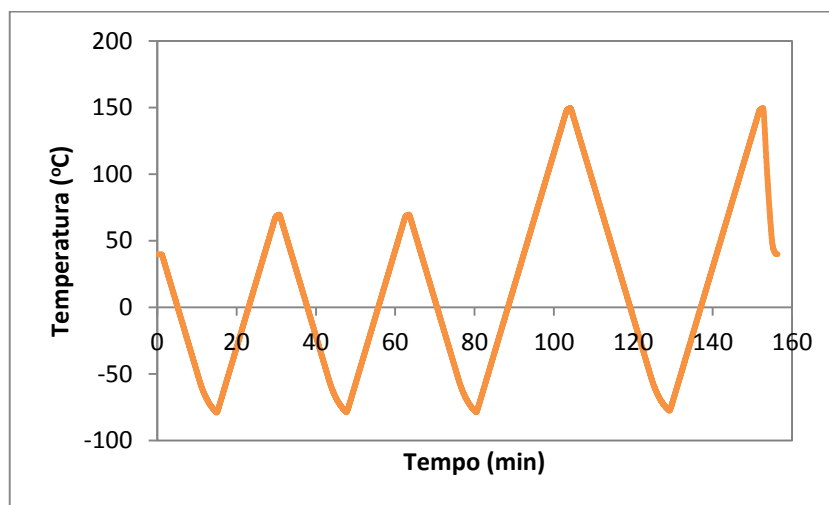


Figura 3.12 - Método utilizado na caracterização da amostra de sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo, utilizando $scCO_2$ como solvente, sendo a velocidade de aquecimento igual à de arrefecimento ($10^\circ C/min$).

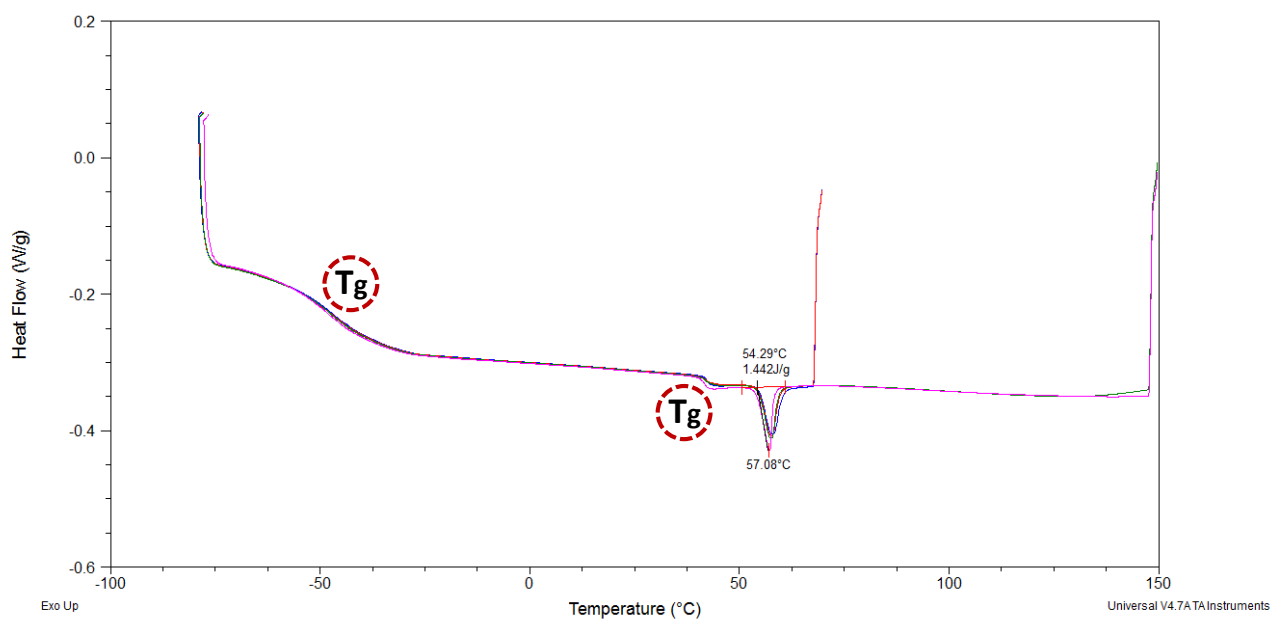


Figura 3.13 - Termograma da sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo, utilizando $scCO_2$ como solvente, evidenciando todos os aquecimentos estudados.

Este termograma exhibe três eventos térmicos: duas transições vítreas e uma fusão. A primeira T_g diz respeito ao polímero, enquanto que a segunda está relacionada com a presença da sinvastatina. As transições vítreas não apresentam grandes discrepâncias aquando comparando com os materiais puros (T_{g_onset} do polímero = $-51.7^\circ C$ e T_{g_onset} da sinvastatina = $35.3^\circ C$). No entanto, o mesmo não se verifica com o pico endotérmico observado a $57^\circ C$ que está muito desviado do valor previsto para a fusão da sinvastatina (único dos dois constituintes que apresenta fusão) e que não se enquadra na regra empírica que relaciona a temperatura de transição vítrea

com a temperatura de fusão ($T_g/T_m = 2/3$). A explicação deste evento térmico não é clara, tendo sido eliminada a hipótese de se dever a alguma cristalinidade do compósito polímero/sinvastatina, uma vez que volta a ser detectada nos termogramas da sinvastatina impregnada em SBA-15, utilizando o $scCO_2$.

Tabela 3.5 - Resumo e comparação dos eventos térmicos registados na sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo, utilizando $scCO_2$ como solvente.

	T _g polímero (°C)	T _g sinvastatina (°C)	T _m (°C)
Nativos	-51.7	35.3	140.9 (sinvastatina)
Mistura	-56.0	40.5	57.1

3.1.4. Sinvastatina impregnada no Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA), utilizando etanol como solvente

3.1.4.1. Calorimetria Diferencial de Varrimento (DSC)

Relativamente, aos ensaios efectuados com o polímero, várias amostras com diferentes proporções foram preparadas (ver o procedimento na secção 2.1.1) e analisadas termicamente. Em todos os casos, o calorímetro foi programado da mesma forma e conforme indica a Figura 3.14.

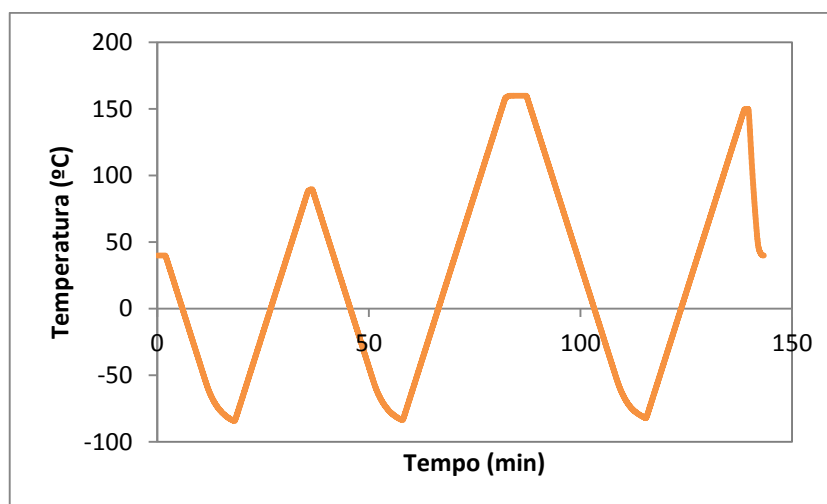


Figura 3.14 - Método utilizado na caracterização das amostras de sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo, sendo a velocidade de aquecimento igual à de arrefecimento (10°C/min).

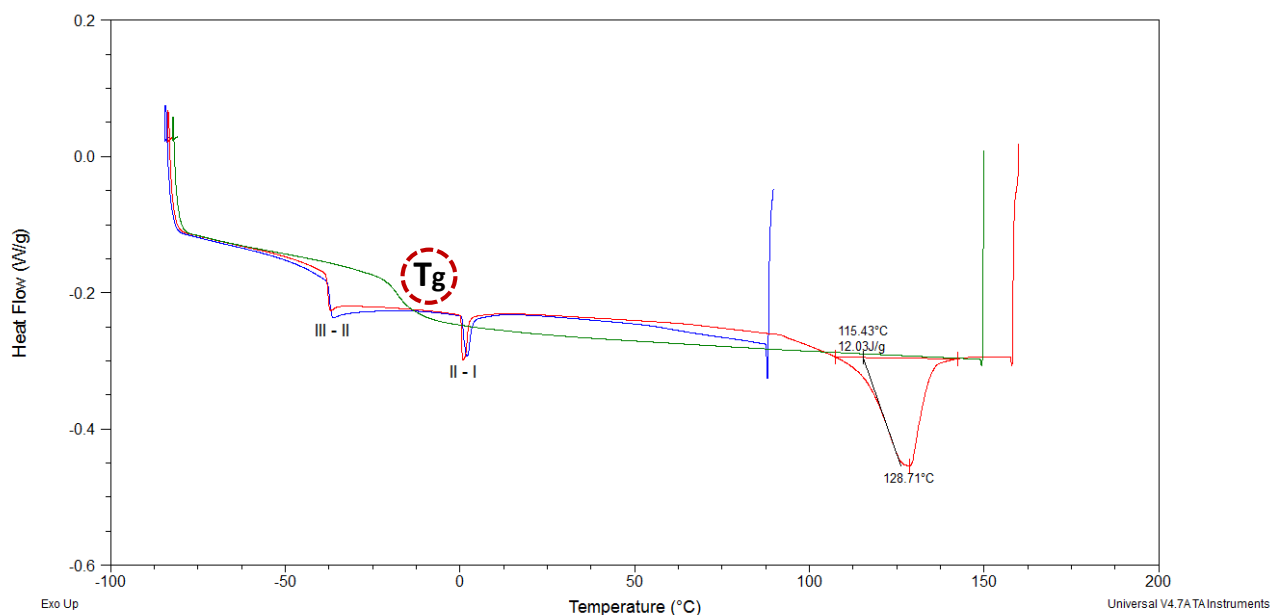


Figura 3.15 - Termograma da sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo (proporção - 2:1), evidenciando todos os aquecimentos estudados.

No caso da mistura com o dobro do polímero em relação à sinvastatina, é possível concluir que a sinvastatina se encontra presente na amostra preparada. Tal é possível denotar pela existência de polimorfismo, característico do fármaco puro (ver Figura 3.3), e pelo facto de se ter registado um ponto de fusão a cerca de 129°C. Este fenómeno diz respeito ao fármaco, visto que o polímero é um material amorfo e, como tal, não funde. Quanto à transição entre os diversos polimorfos, as temperaturas onde ocorrem esses fenómenos encontram-se resumidas e comparadas na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 - Temperatura de conversão e entalpia associadas aos polimorfos da sinvastatina nativa e da impregnada no polímero termo-responsivo (proporção - 2:1).

	I → II	II → III	III → II	II → I
Sinvastatina nativa				
Temperatura (°C)	-1.1	-40.6	-38.1	1.2
Entalpia (J/g)	7.32	1.01	1.08	7.70
Sinvastatina impregnada no polímero – 1º e 2º aquecimentos				
Temperatura (°C)	-1.9	-42.1	-36.4	1.9
Entalpia (J/g)	0.92	0.17	0.42	0.78
Sinvastatina impregnada no polímero – 3º e 4º aquecimentos				
Temperatura (°C)	-1.4	-41.4	-37.2	0.9
Entalpia (J/g)	0.86	0.07	0.39	0.78

A conversão entre os diferentes polimorfos registou-se aproximadamente à mesma temperatura, tanto na mistura como no fármaco puro, embora seja apenas observada nos primeiros ciclos de arrefecimento e aquecimento. No aquecimento posterior, a fusão ocorre a uma temperatura ligeiramente mais baixa que a sinvastatina nativa e o pico é mais largo. A diferença de temperaturas entre o ponto de fusão da sinvastatina nativa ($T_m = \sim 140^\circ\text{C}$) e o obtido nesta preparação pode dever-se ao facto de haver alguma interacção entre a matriz e o fármaco. No arrefecimento subsequente e em todos os passos seguintes, não se observa qualquer cristalização,

conversão ou fusão, sendo detectada apenas uma transição vítrea a $\sim -21^\circ\text{C}$. Tal leva a crer que a sinvastatina logo após a preparação ainda se encontrava com uma forma semelhante à nativa e com o aquecimento e fusão da sinvastatina nativa foi promovida a miscibilização com o polímero e homogeneização da mistura.

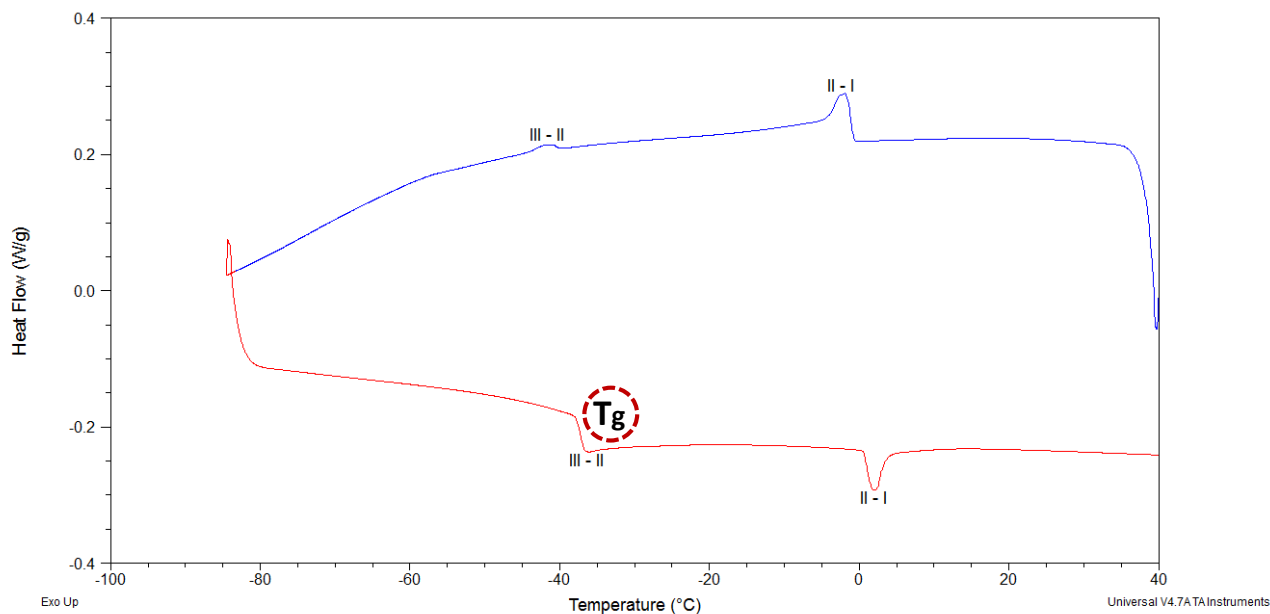


Figura 3.16 - Termograma da sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo (proporção - 2:1), evidenciando o primeiro arrefecimento e aquecimento e a transição vítrea do polímero.

Na Figura 3.16, encontra-se salientada a conversão entre o polimorfo III e o II durante o aquecimento da amostra. A forma do pico, diferente dos restantes, poderá estar relacionada com a temperatura de transição vítrea do polímero, a qual se regista a -51.7°C (ver Tabela 3.2) e não se encontra visível no termograma acima. Uma explicação possível para este facto poderá ser uma sobreposição dos dois eventos térmicos (a transição vítrea do polímero e a conversão entre o polimorfo III e II) que resulta então num pico disforme. Quanto à T_{g_onset} da amostra, a mesma foi detectada a -21.0°C , entre a T_{g_onset} do polímero ($\sim -52^\circ\text{C}$) e da sinvastatina ($\sim 35^\circ\text{C}$).

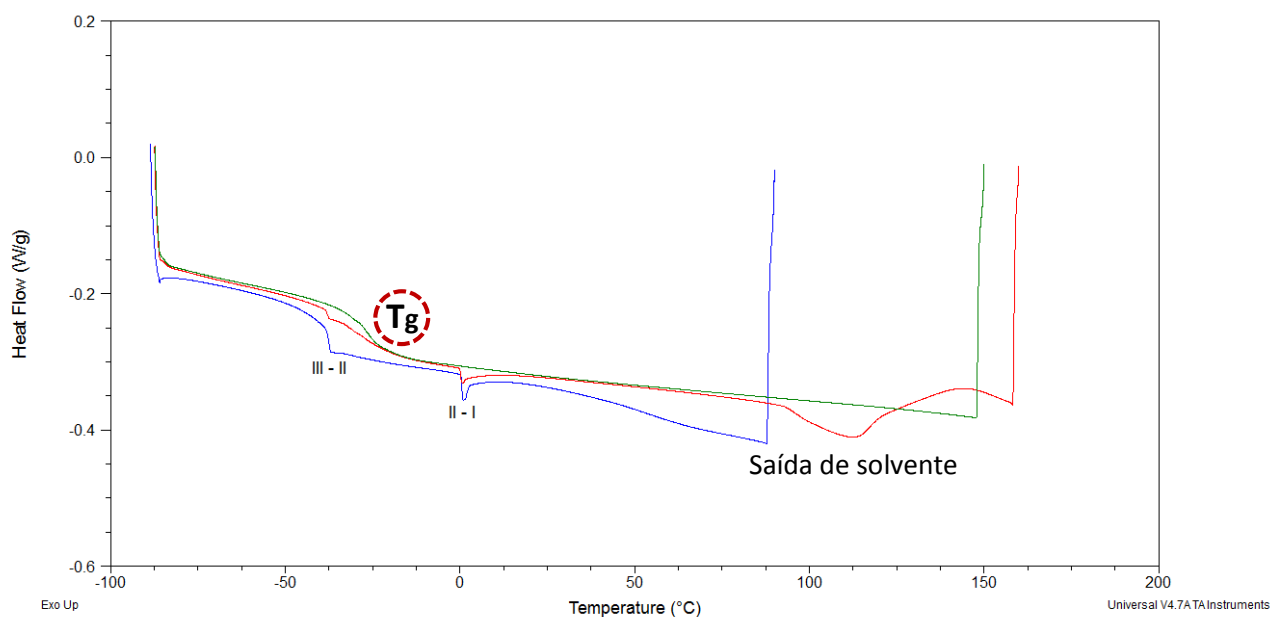


Figura 3.17 - Termograma da sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo (proporção - 3:1), evidenciando todos os aquecimentos estudados.

A análise térmica efectuada ao compósito formado pelo Poli-(MEO₂MA-*co*-OEGMA) e a sinvastatina, onde o polímero se encontra em excesso três vezes, revelou-se semelhante à obtida para a mistura 2:1. Inicialmente, observa-se a conversão entre os polimorfos da sinvastatina. Verifica-se também uma possível transição vítrea do polímero acoplada à conversão entre o polimorfo III e II a -38.1°C. A descida da linha do fluxo de calor registada a partir dos 40°C pode estar associada à saída de solvente ainda presente na amostra. No segundo aquecimento, a transição entre polimorfos ainda é visível. A temperaturas acima dos 100°C existem perturbações no fluxo de calor que podem estar relacionadas com a fusão da sinvastatina. Tal pode justificar o facto de que no terceiro aquecimento, não se observa as conversões entre os polimorfos e apenas uma transição vítrea ($T_{g_onset} = -30.7^{\circ}\text{C}$) é registada. Esta deverá corresponder a uma mistura homogénea e amorfa do polímero com a sinvastatina.

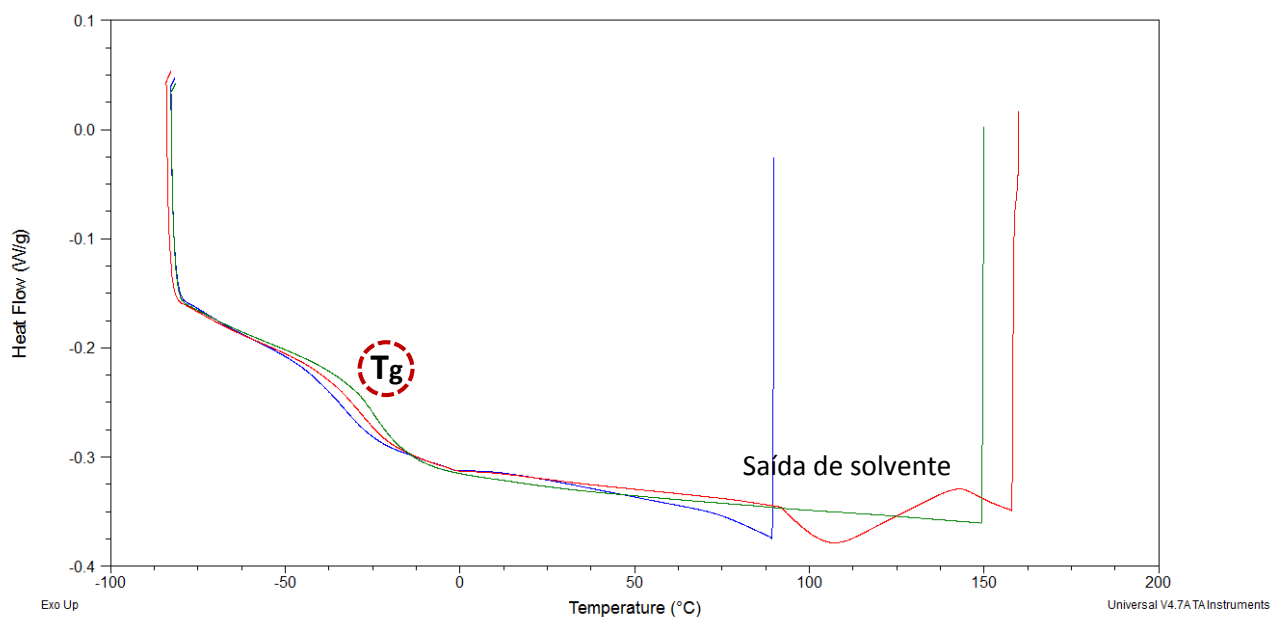


Figura 3.18 - Termograma da sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo (proporção - 4:1), evidenciando todos os aquecimentos estudados.

No caso da mistura de 4:1, onde o polímero se encontra em excesso, verifica-se a presença de uma transição vítrea desde do primeiro aquecimento, ou seja, antes de se atingir a temperatura de fusão da sinvastatina. À semelhança da amostra 3:1, observa-se uma descontinuidade no fluxo de calor a partir dos ~40°C, a qual pode estar relacionada com a evaporação do solvente. Assim sendo, esta preparação resultou numa amostra no estado amorfo sem ter sido necessário aplicar nenhum tratamento térmico, ao contrário do que foi feito na amostra 2:1 em que foi necessário fundir a mistura para se amorfizar a mesma.

Tabela 3.7 - Resumo das temperaturas de transição vítrea da sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo (proporção - 4:1).

	Tg _{onset} (°C)	Tg _{midpoint} (°C)	Tg _{endpoint} (°C)
1º aquec. (azul)	-41.9	-33.8	-26.5
2º aquec. (vermelho)	-37.1	-28.0	-21.3
3º aquec. (verde)	-31.0	-24.6	-15.6

Através da Tabela 3.7, é possível verificar a existência do efeito plastificante da água, uma vez que a sua remoção tem um efeito directo na temperatura de transição vítrea da amostra. Este comportamento já era observado no Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo, no qual à medida que a água é removida, a temperatura de transição vítrea desloca-se para valores mais elevados, havendo uma variação de 10°C entre o primeiro e o último aquecimento, como observado neste compósito.

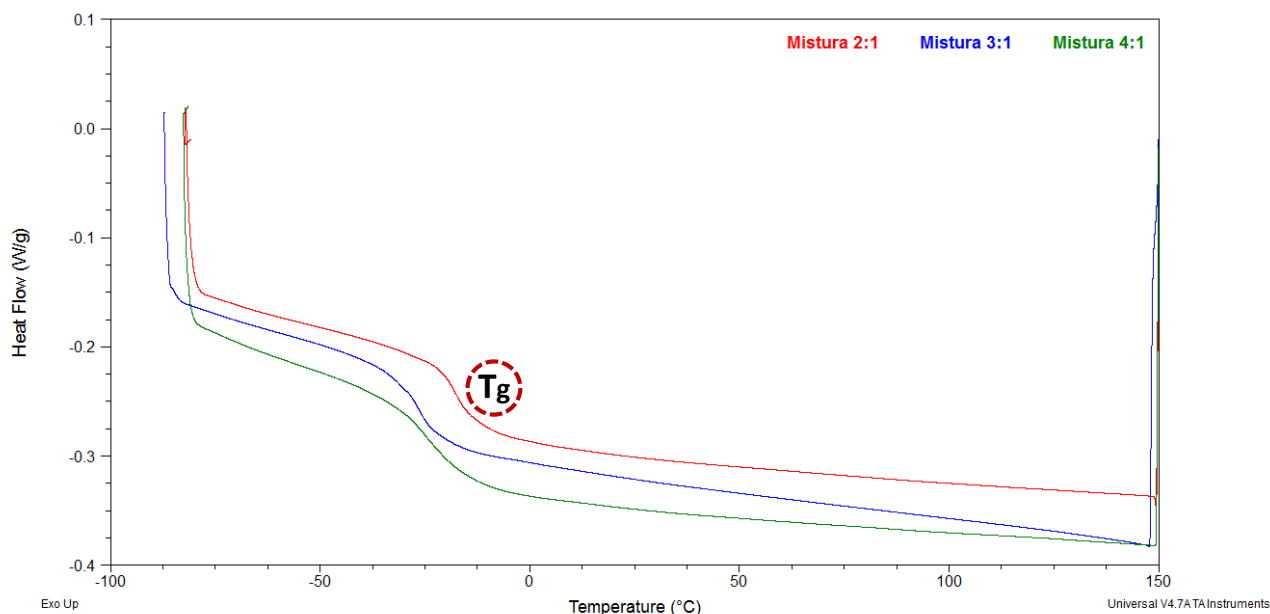


Figura 3.19 - Termograma da sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo, evidenciando o último aquecimento e comparando as três proporções: 2:1, 3:1 e 4:1.

Comparando os termogramas finais das três amostras (Figura 3.19), observa-se uma variação monotônica com a composição, ou seja, à medida que se aumenta a concentração de polímero, a T_g da mistura desloca-se para valores mais negativos, aproximando-se da temperatura de transição vítrea do Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) nativo.

Tabela 3.8 - Resumo das temperaturas de fusão e de transição vítrea obtidas para as diferentes proporções de sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo. A última coluna contém as temperaturas de transição vítrea estimada pela equação de Fox e o respectivo erro.

	Tg_polímero (°C)	Tm_sinvastatina (°C)	Tg_mistura (°C)	Tg_equaçãoFox (°C)
2:1	-38.1	128.7	-21.0	-28.76 (erro = 3.2%)
3:1	-38.1	-	-30.7	-37.33 (erro = 3.0%)
4:1	-	-	-31.0	-38.71 (erro = 3.3%)

Estes resultados podem ser analisados pela equação de Fox [51] que prevê que a temperatura de transição vítrea para um sistema totalmente miscível (ideal) seja dada por:

$$\frac{1}{T_g} = \frac{w_1}{T_{g1}} + \frac{w_2}{T_{g2}} \quad \text{Equação 8}$$

sendo w_i e T_{gi} a fracção em massa e a temperatura de transição vítrea do componente i.

Utilizando as massas de cada constituinte e as suas temperaturas de transição vítrea medidas no *onset*, a equação permitiu estimar os valores incluídos na Tabela 3.8. Estes valores encontram-se representados no gráfico seguinte.

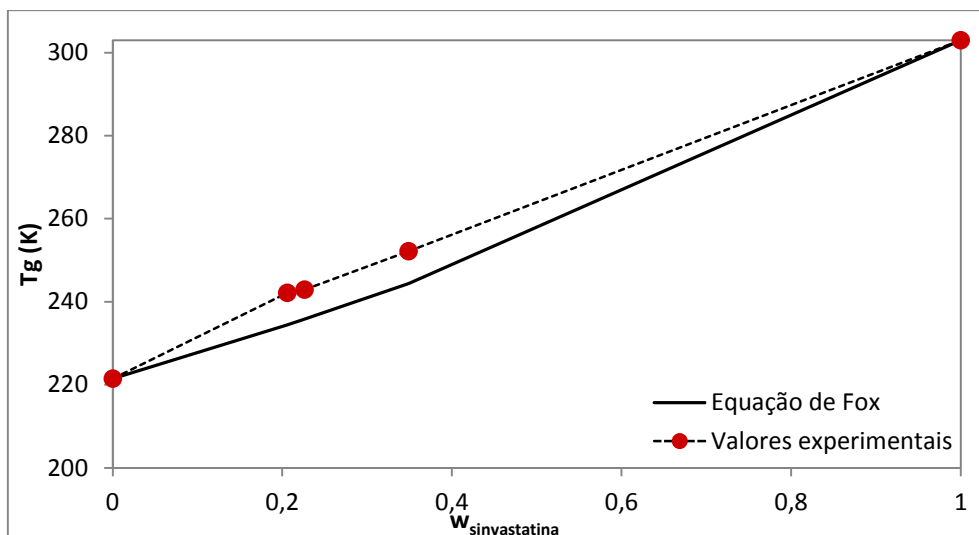


Figura 3.20 - Comparação entre as temperaturas de transição vítrea estimadas pela equação de Fox e as obtidas experimentalmente.

Em todos os casos, conseguiram-se condições para amorfizar a sinvastatina, o que é um resultado bastante promissor tendo em conta que não há muitos estudos que combinam este fármaco com um polímero termo-responsivo.

A mistura 2:1 foi submetida a estudo posterior com recurso a duas técnicas: TGA e DRS, sendo que os ensaios de TGA foram executados em Lille, França, mais propriamente na Université Lille 1 durante um estágio de dois meses que realizei nessa instituição.

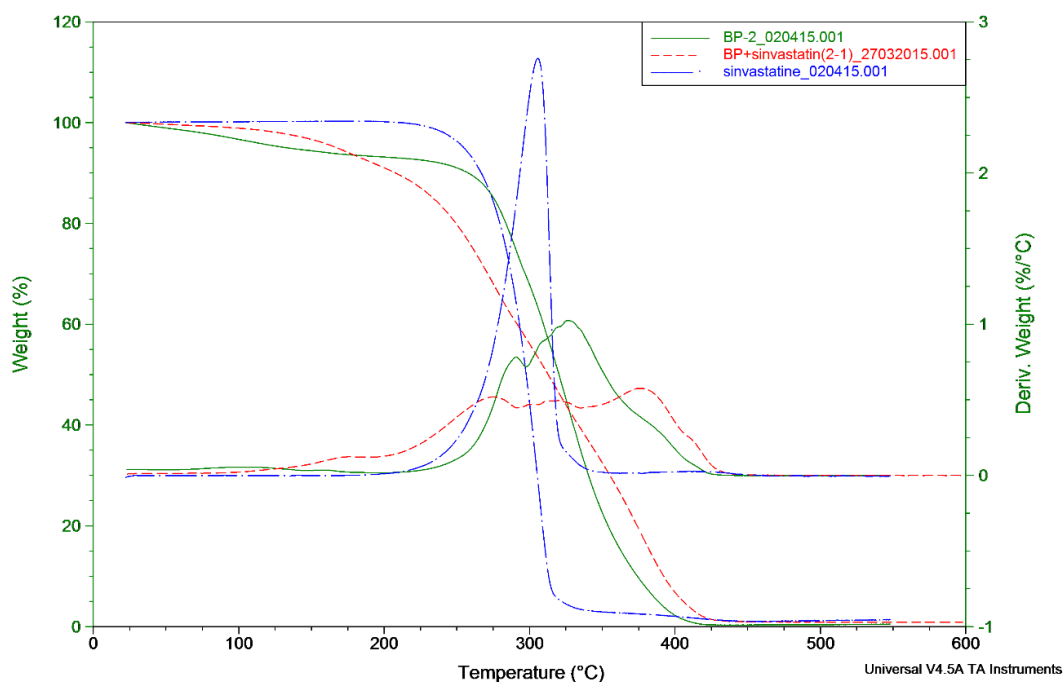


Figura 3.21 - Termograma obtido através da técnica de Termogravimetria (TGA) do sinvastatina (azul), polímero (verde) e da sinvastatina impregnada no polímero (vermelho). Estes ensaios foram executados pela Dra. Florence Danède.

No termograma presente na Figura 3.21, é possível observar que o perfil de degradação do compósito formado pelo polímero e a sinvastatina tem cinco passos. O primeiro corresponde ao polímero nativo, mas pode representar a evaporação de água ou solvente. Contudo, apercebemo-nos que o polímero degrada a cerca de 200°C, pelo que é provável que a primeira saída diga respeito à evaporação do solvente e à degradação desta matriz. Analisando as derivadas da perda de peso, os perfis não são exactamente iguais a nenhum dos compostos nativos. Estas diferenças podem ser explicadas pela interacção entre a sinvastatina e o o polímero que altera a forma como a amostra perde o seu peso. A quantificação da sinvastatina impregnada no polímero é dificultada pela quase sobreposição dos intervalos de temperatura onde ocorre a perda de massa de cada constituinte. Ainda assim, a partir do termograma global, é visível que o Poli-(MEO₂MA-co-OEGMA) se encontra em maior proporção relativamente à sinvastatina, tal como era esperado pelo rácio de 2:1 da mistura.

3.1.4.2. Espectroscopia de Relaxação Dielétrica (DRS)

Nos ensaios dielétricos, a mistura 2:1 foi inicialmente aquecida até 60°C e mantida a essa temperatura durante 30 minutos. Em seguida, arrefeceu-se a amostra até -120°C, aqueceu-se até 150°C, repetiu-se este processo e procedeu-se à aquisição das várias isotérmicas entre -120°C e 150°C. Nesse intervalo de temperaturas, foram detectados vários processos de relaxação. Devido à elevada condutividade do polímero, a resposta dielétrica foi analisada através da representação do módulo dielétrico. Algumas isotérmicas colectadas para o compósito na parte imaginária do módulo, M'' , encontram-se representadas na Figura 3.22.

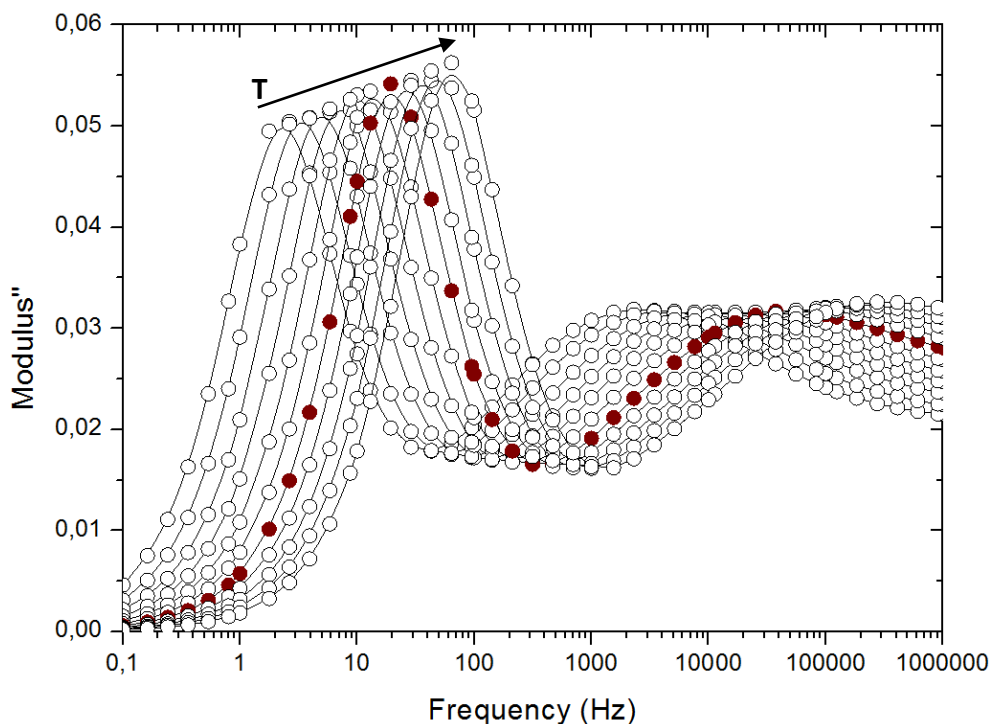


Figura 3.22 - Espectros da componente imaginária do módulo dielétrico, M'' , entre 10 e 30°C, colectadas para a mistura entre a sinvastatina e o polímero termo-responsivo (proporção - 2:1). A isotérmica representada por círculos vermelhos foi adquirida a 22°C (ver a simulação na Figura 3.23).

À semelhança do que foi feito no polímero nativo, cada espectro foi decomposto através de um somatório de equações de Havriliak-Negami (Equação 2) que expressam a permitividade complexa. Na Figura 3.23, está ilustrado o processo de *fitting* da isotérmica colectada a 22°C, sendo que a linha azul representa o ajuste global resultante da adição de duas funções individuais Havriliak-Negami (linhas cor-de-rosa).

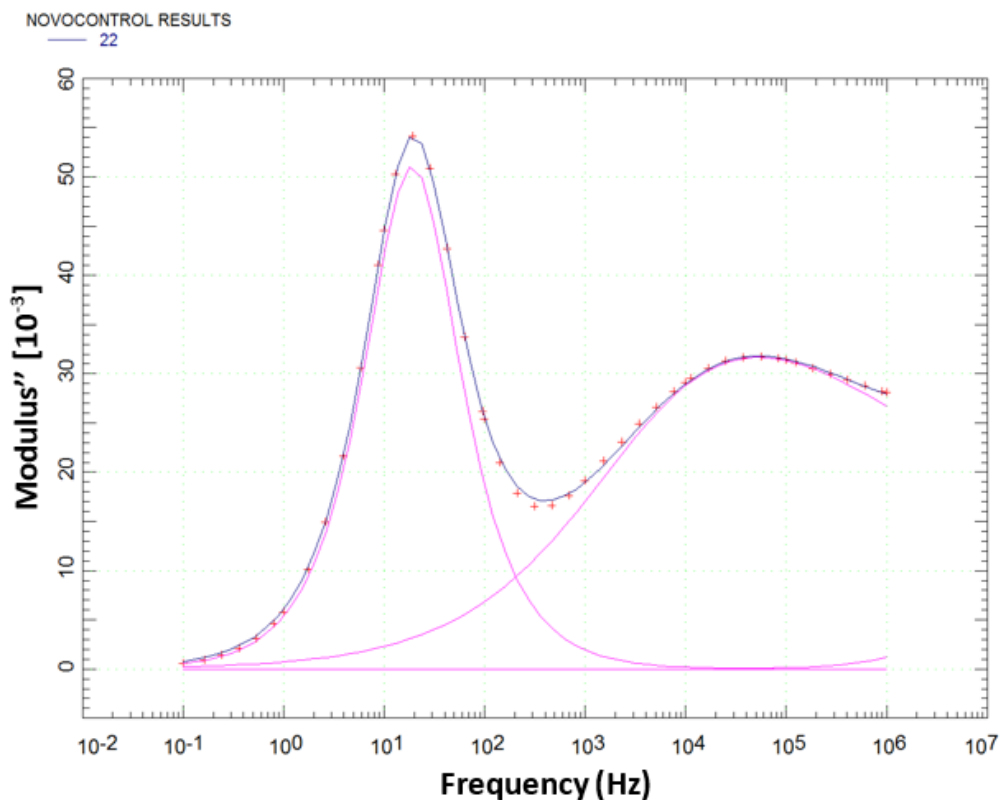


Figura 3.23 - Isotérmica (22°C) da mistura entre a sinvastatina e o polímero termo-responsivo (proporção - 2:1) ajustada no M'' , através da equação Havriliak-Negami.

Os tempos de relaxação extraídos da posição do máximo de cada pico, em frequência, encontram-se representados na Figura 3.24 em função do inverso da temperatura absoluta.

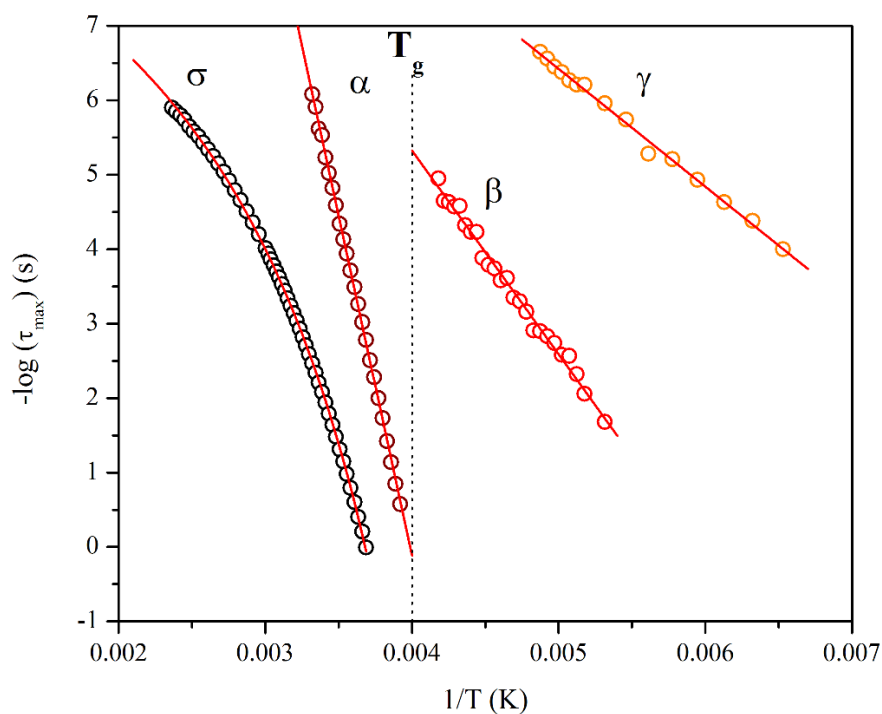


Figura 3.24 - Mapa de relaxação da mistura entre a sinvastatina e o polímero termo-responsivo (proporção - 2:1). As linhas vermelhas correspondem aos ajustes feitos através da equação de VFT (processo σ) e da equação de Arrhenius (processo α , β e γ). A linha vertical a tracejado indica T_{g_onset} estimada por medidas calorimétricas.

Na região sub-vítrea (a linha a tracejado indica a T_g estimada pelo DSC), foram detectados dois processos (γ e β , sendo o γ o que se localiza nas temperaturas mais baixas) com uma dependência linear da temperatura. Assim sendo, utilizou-se a equação de Arrhenius (Equação 6) para se calcular a energia de activação e o factor pré-exponencial da lei arrheniana (ver Tabela 3.9).

Tabela 3.9 - Resumo dos processos simulados para a sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo (proporção - 2:1).

Processo	ΔT (°C)	$-\log(\tau_\infty)$ (s)	τ_∞ (s)	B (K)	T_0 (K)	E_a (kJ/mol)	α_{HN} β_{HN}
σ	[150,-2]	9.01	9.68×10^{-10}	1603.6	194.4	---	1 1
α	[28,-18]	36.39	4.08×10^{-37}	---	---	174.7	0.495→0.512 0.250→0.563
β	[-34,-85]	16.27	5.33×10^{-17}	---	---	52.4	[0.404;0.736] [0.472;0.740]
γ	[-68,-120]	14.34	4.58×10^{-15}	---	---	30.3	[0.326;0.433] [0.323;0.500]

Acima da temperatura de transição vítrea calorimétrica, emergem dois novos processos, sendo um deles relacionado com a dinâmica de transição vítrea, designado como α , e outro originado pelo transporte de carga, denominado processo σ . Este último apresenta um perfil curvilíneo no mapa de relaxação, obedecendo à lei de VFT (Equação 7), o que permitiu calcular os restantes parâmetros presentes na Tabela 3.9.

Em relação ao processo α , é possível estimar a temperatura de transição vítrea dielétrica por extrapolação da dependência da temperatura para $\tau = 100$ s. Assim sendo, obteve-se o valor de -33°C que se encontra num acordo razoável com a T_{g_onset} calorimétrica (-22°C). A partir do declive, e de acordo com a lei de Arrhenius (Equação 6), a energia de activação do processo α foi estimada para a temperatura de transição vítrea calorimétrica como sendo 174.7 kJ/mol.

Para relacionar os processos detectados nesta mistura com os seus componentes nativos, a representação $\log(\tau_{max})$ vs $1/T$ (ver Figura 3.25) foi sobreposta com os dados obtidos para a sinvastatina⁽⁴⁾ e polímero puros. A partir desta comparação, concluiu-se que as relaxações sub-vítreas são originadas a partir da sinvastatina, uma vez que se verifica a sobreposição total dos tempos de relaxação. Por outro lado, os processos α - e σ - estão localizados a intervalos de frequência e temperatura intermédios aos dos dois constituintes nativos da amostra. No entanto, a dependência quase arrheniana da relaxação α do compósito parece indicar que a sinvastatina influencia fortemente a dinâmica do processo da mistura.

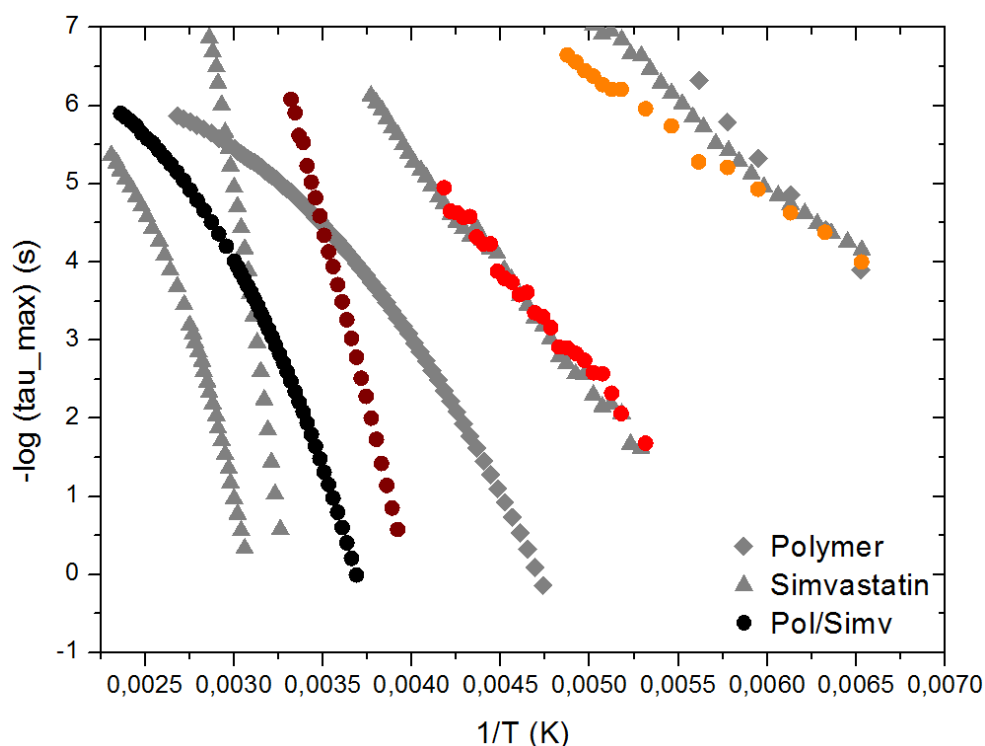


Figura 3.25 - Comparação entre a sinvastatina impregnada no polímero termo-responsivo (proporção - 2:1, assinalada por círculos) e os seus constituintes nativos, sendo a sinvastatina designada por triângulos e o polímero por losangos.

⁽⁴⁾ A sinvastatina nativa foi medida pela Post-Doc María Teresa Viciosa Plaza e analisada pela estudante de doutoramento Teresa Cordeiro.

3.2. Naproxeno/Sílica

Antes de se proceder ao estudo das três misturas, é necessário compreender todos os fenómenos térmicos associados aos compostos puros, pelo que se procedeu à caracterização por calorimetria diferencial de varrimento do princípio activo, uma vez que se sabia de antemão que a matriz não exibía qualquer evento térmico.

3.2.1. Naproxeno nativo

No que concerne ao naproxeno, o método utilizado encontra-se esquematizado na Figura 3.26, tendo o fármaco sido arrefecido e aquecido a uma velocidade de 10°C/min nos primeiros seis passos e de 30°C/min nos últimos dois. Esta diferença de velocidades tem como intuito o de evitar a cristalização do composto, sendo que no passo corrido a 30°C/min as moléculas de naproxeno não têm tanto tempo para formar uma estrutura cristalina como nos ciclos aquecidos mais lentamente. No entanto, mesmo sob estas condições não foi evitada a cristalização. Tendo em conta que o ponto de fusão do naproxeno ronda os 155°C, aqueceu-se a amostra até 175°C para garantir que fundia completamente.

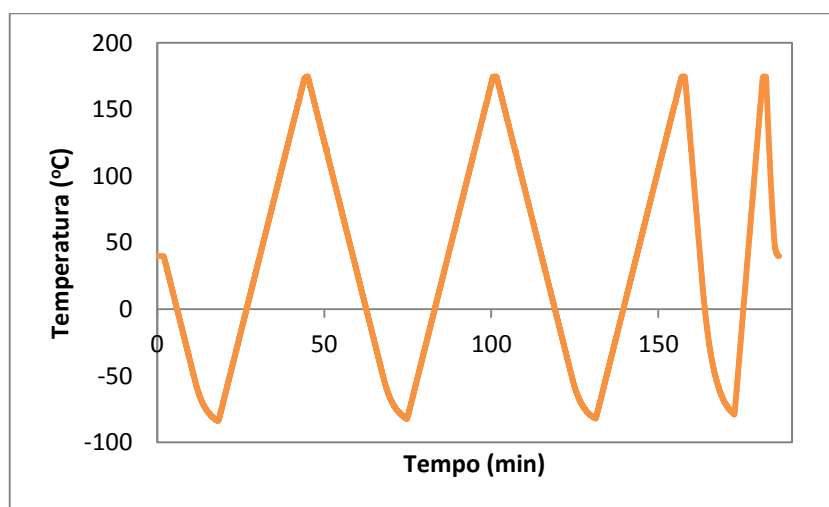


Figura 3.26 - Método utilizado na caracterização do naproxeno nativo, sendo a velocidade de aquecimento igual à de arrefecimento: 10°C/min nos primeiros seis passos e 30°C/min nos últimos dois.

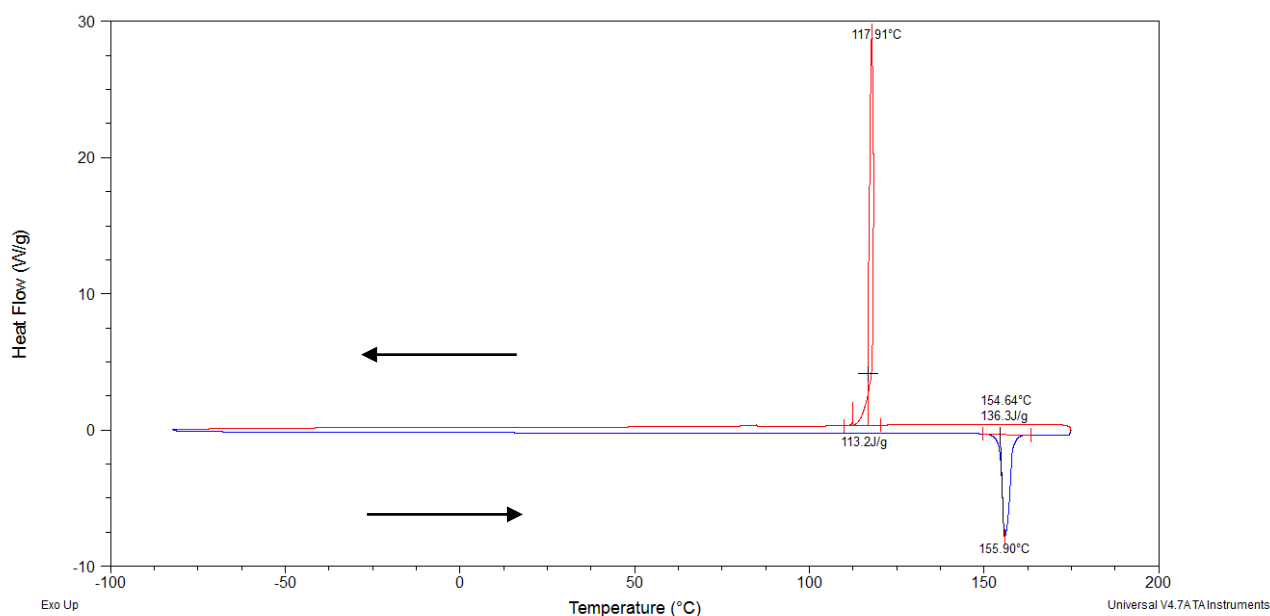


Figura 3.27 - Termograma do naproxeno nativo, evidenciando o segundo arrefecimento e o terceiro aquecimento.

Ao contrário da sinvastatina, não se verificou a ocorrência de polimorfismo no naproxeno. Determinou-se que a temperatura de fusão do fármaco nativo ronda os 156°C, enquanto que a sua recristalização ocorre por volta dos 118°C (Tabela 3.10).

Tabela 3.10 - Resumo das temperaturas de cristalização e fusão do naproxeno.

	1º aquec.	1º arref.	2º aquec.	2º arref.	3º aquec.	3º arref.	4º aquec.
T _m	156.4°C	-	155.9°C	-	155.8°C	-	156.0°C
T _c	-	120.0°C	-	117.9°C	-	117.5°C	-

Na cristalização, denotou-se a presença de um *loop* (“laço”) ao invés de uma banda. Este *loop* deve-se ao facto do fluxo de calor envolvido na cristalização da amostra ser libertado de forma tão rápida que origina um auto-aquecimento da amostra. O *loop* foi, então, originado com o avançar do fenómeno térmico e pelo facto do fluxo de calor voltar à linha de base antes da temperatura do sensor ter restabelecido o equilíbrio com a temperatura real do naproxeno.

Segundo a literatura [15], a transição vítrea do naproxeno ocorre perto dos 6°C. Contudo, em todos os ciclos estudados não se observou a presença da T_g. Submeteu-se inclusive a amostra a *Quench Cooling*, mas não se conseguiu evitar a recristalização do composto. Esta técnica visa arrefecer instantaneamente a amostra, com o auxílio de azoto líquido, de modo a tentar evitar que as moléculas se organizem e a cristalização ocorra.

Para se complementar os dados térmicos obtidos pelo DSC, estudou-se a cristalização e a fusão do naproxeno através da Microscopia de Luz Polarizada. Deste modo, aqueceu-se o fármaco até aos 170°C, seguindo-se de um arrefecimento até aos 70°C e de um novo aquecimento até aos 170°C. A preparação estabilizou durante um minuto em cada uma das temperaturas mencionadas e a velocidade de aquecimento e arrefecimento escolhida foi de 5°C/min.

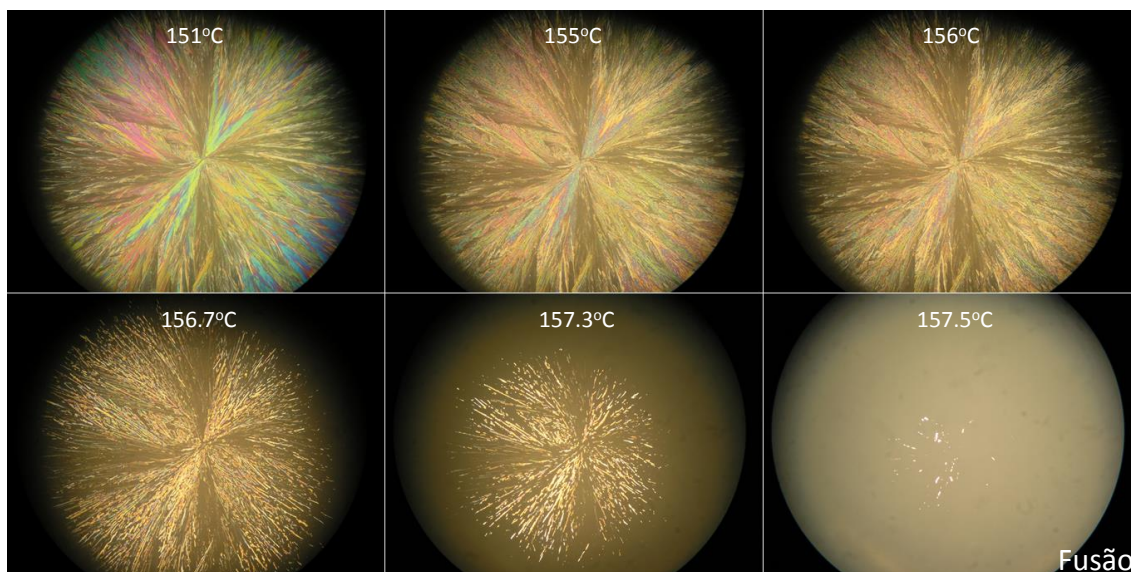


Figura 3.28 - Fusão do naproxeno retratado através da Microscopia de Luz Polarizada. As imagens foram captadas com um zoom de 40x e utilizando polarizadores cruzados. A monitorização da fusão do naproxeno foi feita entre 70 e 170°C, em aquecimento, a uma velocidade de 5°C/min.

Através da montagem de imagens presente na Figura 3.28, concluiu-se que a fusão do naproxeno é um processo relativamente longo no tempo e que se prolonga durante alguns graus centígrados. Prova disso é que a primeira fotografia que evidencia sinais deste fenómeno térmico foi tirada quando a amostra atingiu os 151°C, sendo que o processo só se findou nos 157.5°C. É de salientar que a terceira imagem presente na sequência acima foi captada a 156°C, temperatura essa que foi determinada pelo DSC como sendo a temperatura de fusão do fármaco.

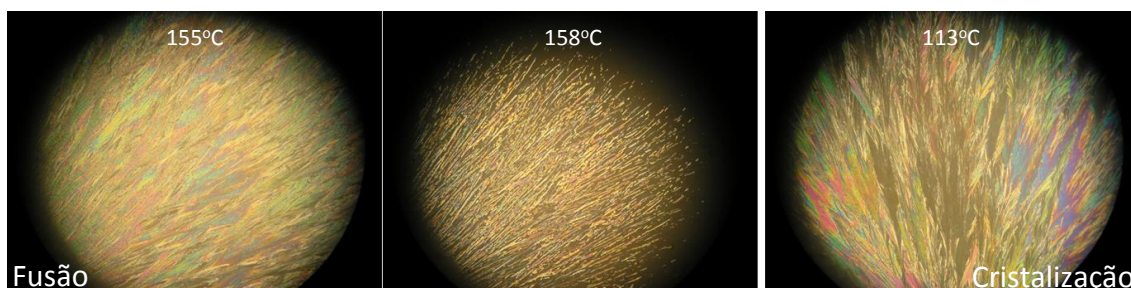


Figura 3.29 - Fusão e recristalização do naproxeno retratados através da Microscopia de Luz Polarizada. As imagens foram captadas com um zoom de 40x e utilizando polarizadores cruzados. A monitorização da fusão e recristalização do naproxeno foi feita entre 70 e 170°C a uma velocidade de 5°C/min.

No que diz respeito à cristalização, o evento é mais rápido, sendo que a única imagem que se conseguiu tirar da recristalização foi a terceira presente na montagem acima. Essa fotografia foi captada a 113°C, quatro graus abaixo da temperatura de cristalização determinada pelo DSC. É de notar que as moléculas cristalizam de forma organizada, mas com uma orientação diferente da verificada antes da fusão. Este facto pode ser comprovado pela comparação entre a primeira e a última imagem presentes na Figura 3.29.

3.2.2. Naproxeno impregnado em SBA-15 (5.9 nm) através do método tradicional, utilizando etanol como solvente

O naproxeno impregnado em SBA-15 foi analisado segundo o procedimento térmico esquematizado na Figura 3.30. É de frisar a isotérmica de 10 minutos que se fez entre os passos quatro e cinco para garantir que o fármaco atingia a temperatura pretendida, 180°C, e fundia totalmente.

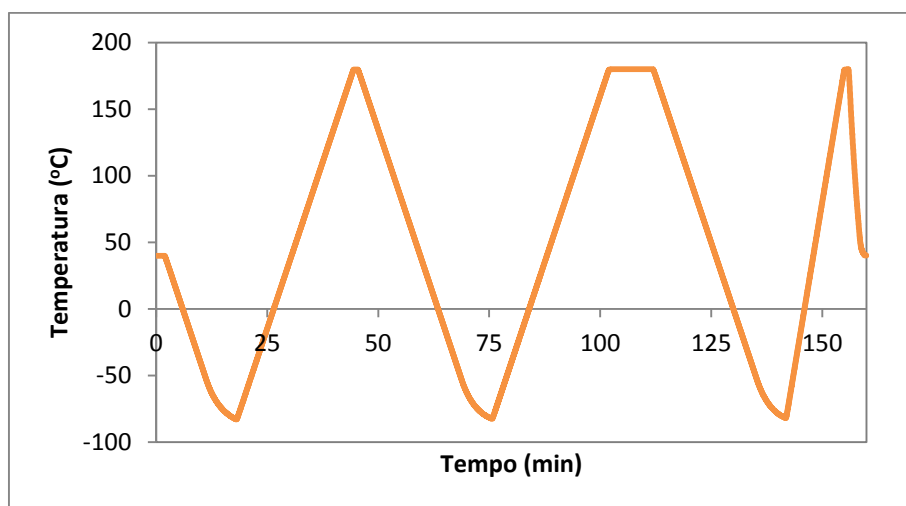


Figura 3.30 - Método utilizado na caracterização do naproxeno impregnado em SBA-15 através do método tradicional, sendo a velocidade de aquecimento igual à de arrefecimento: 10°C/min em todos os passos exceptuado o último cuja velocidade de aquecimento foi de 20°C/min.

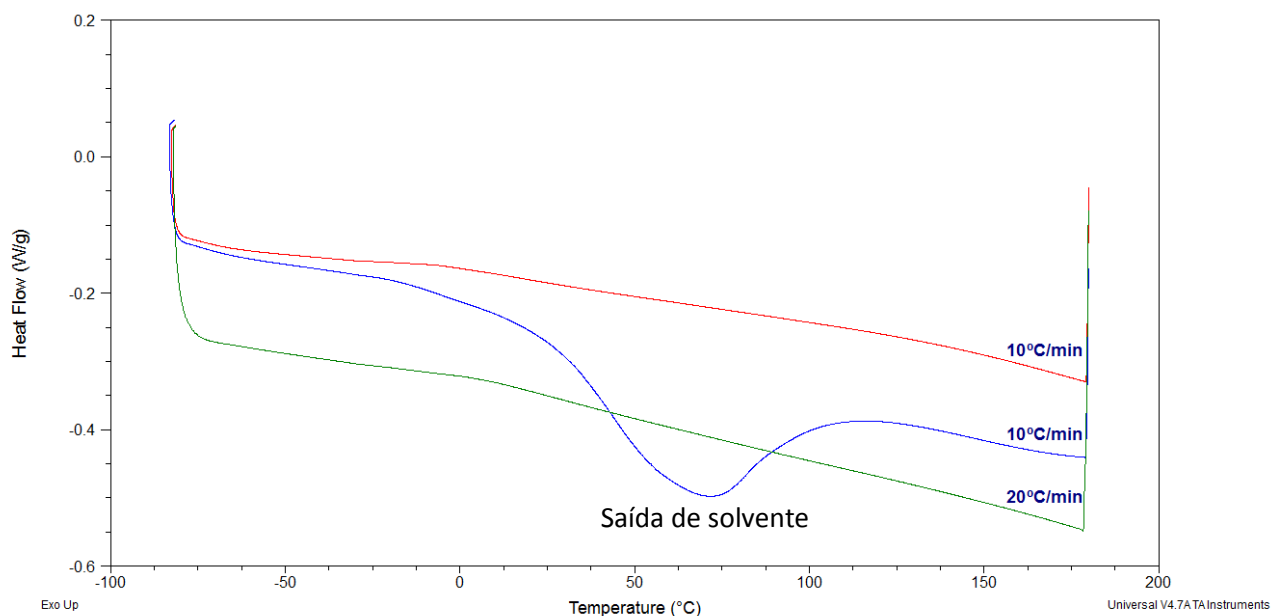


Figura 3.31 - Termograma do naproxeno impregnado em SBA-15 através do método tradicional, evidenciando todos os aquecimentos estudados.

À semelhança da tentativa de confinamento da sinvastatina em sílica através do método tradicional, também não é possível visualizar nenhum evento térmico que indique que a amostra medida contém naproxeno. É, no entanto, visível um desnível no fluxo de calor perto dos 0°C nos aquecimentos representados a vermelho e verde. Tal poderia indicar a presença de uma transição vítrea. Assim, sobrepôs-se o termograma acima com o da sílica nativa e percebeu-se que esse desnivelamento era característico da linha de base da sílica (ver o termograma a tracejado na Figura 3.34). Deste modo, a única banda presente na Figura 3.31 diz respeito à evaporação de uma mistura entre o etanol e a água. Em princípio, o álcool utilizado na preparação da amostra foi removido no processo de secagem. Quanto à presença de água, isso deve-se ao facto da sílica ser bastante higroscópica, pelo que absorve as moléculas de água presente na atmosfera.

3.2.3. Naproxeno impregnado em MCM-41 (3.2 nm) através da técnica sob vácuo, utilizando etanol como solvente

Como procedimento alternativo, recorreu-se à técnica sob vácuo para tentar amorfizar e estabilizar o composto terapêutico. Para além disso, alterou-se o tamanho de poro da sílica, sendo que a MCM-41 apresenta um diâmetro de poro inferior à SBA-15. Na Figura 3.32, encontra-se presente o método utilizado na caracterização térmica da mistura.

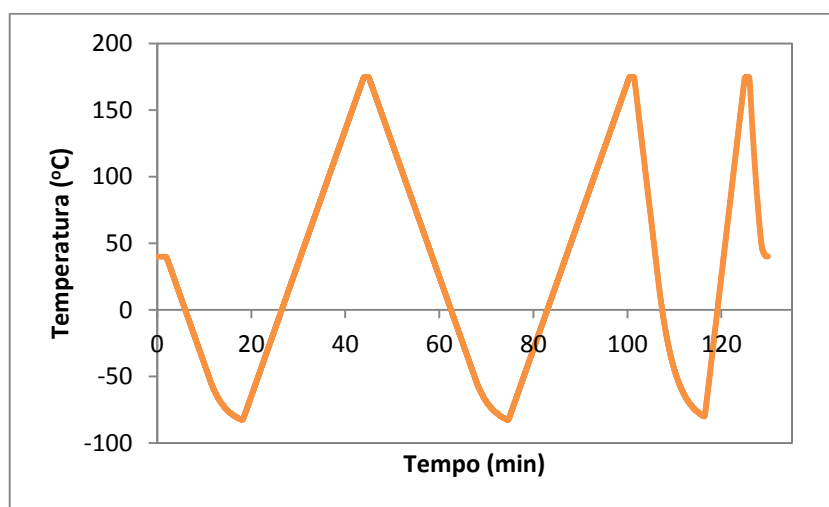


Figura 3.32 - Método utilizado na caracterização do naproxeno impregnado em MCM-41 através da técnica sob vácuo, sendo a velocidade de aquecimento igual à de arrefecimento: 10°C/min nos primeiros quatro passos e 30°C/min nos últimos dois.

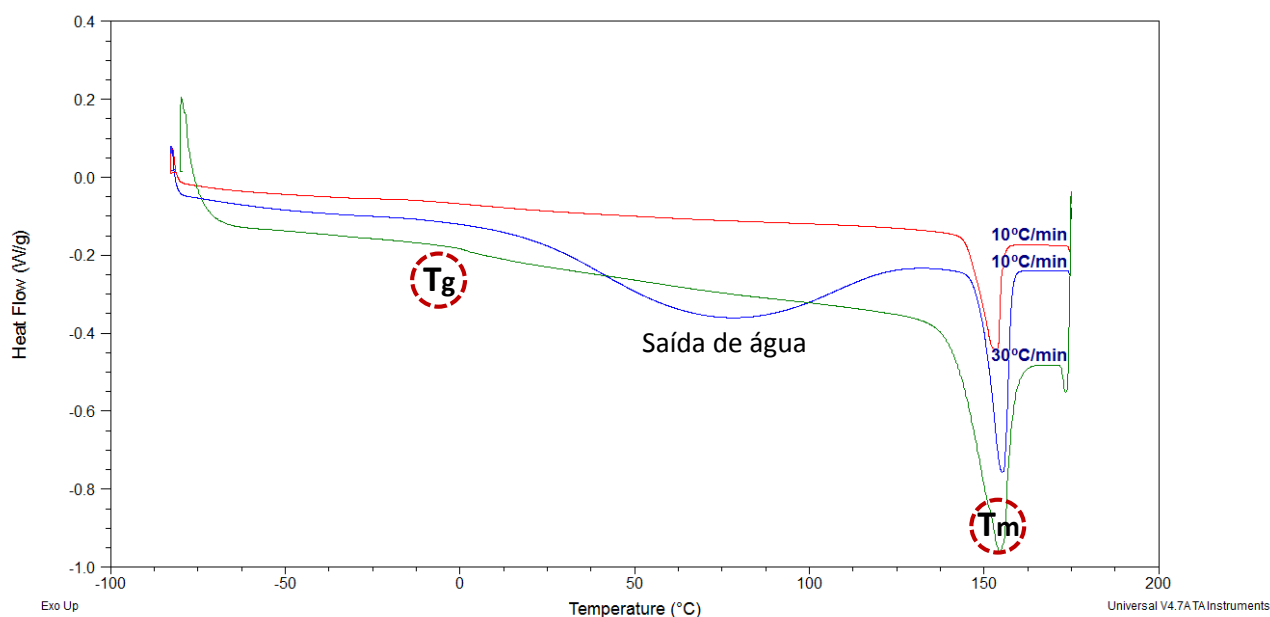


Figura 3.33 - Termograma do naproxeno impregnado em MCM-41 através da técnica sob vácuo, evidenciando todos os aquecimentos estudados.

No termograma relativo ao primeiro compósito resultante do método sob vácuo, é visível uma banda larga relativa à saída de água no primeiro aquecimento. Para além disso, observou-se uma fusão e uma cristalização em todos os aquecimentos e arrefecimentos, respectivamente. Na Tabela 3.11, encontram-se resumidas todas as temperaturas onde ocorrem esses eventos térmicos.

Tabela 3.11 - Resumo das temperaturas de cristalização e fusão do naproxeno impregnado em MCM-41 através da técnica sob vácuo, utilizando etanol como solvente.

	1º aquec.	1º arref.	2º aquec.	2º arref.	3º aquec.
T _m	155.1°C	-	153.6°C	-	154.4°C
T _c	-	83.9°C	-	72.2°C	-

No ciclo varrido a 30°C/min, verificou-se a presença de um desnível perto dos 0°C, o que pode corresponder à transição vítrea do naproxeno. Sabendo que a linha de base da sílica não é perfeita e que apresenta um declive negativo, procedeu-se à sobreposição (Figura 3.34) da mesma com o compósito em estudo. Através dessa comparação, é possível concluir que, apesar de não ser muito acentuada, a amostra apresenta uma temperatura de transição vítrea a cerca de 5°C. Assim sendo, e tendo em conta que o compósito também apresenta um ponto de fusão, o naproxeno encontra-se no estado semi-cristalino. Uma possível explicação para o facto de nem toda a amostra ter amorfizado dentro dos poros da sílica poderá ser o facto da mesma ter ficado a agitar durante vinte dias. Este movimento continuado pode ter sido o responsável por remover algum do naproxeno do interior dos poros da sílica. Outra justificação possível está relacionada com o tamanho de poro. Se, por um lado, um diâmetro demasiado pequeno impossibilita a penetração do naproxeno, por outro, se o mesmo for excessivamente grande, o fármaco pode ter espaço para recrystalizar.

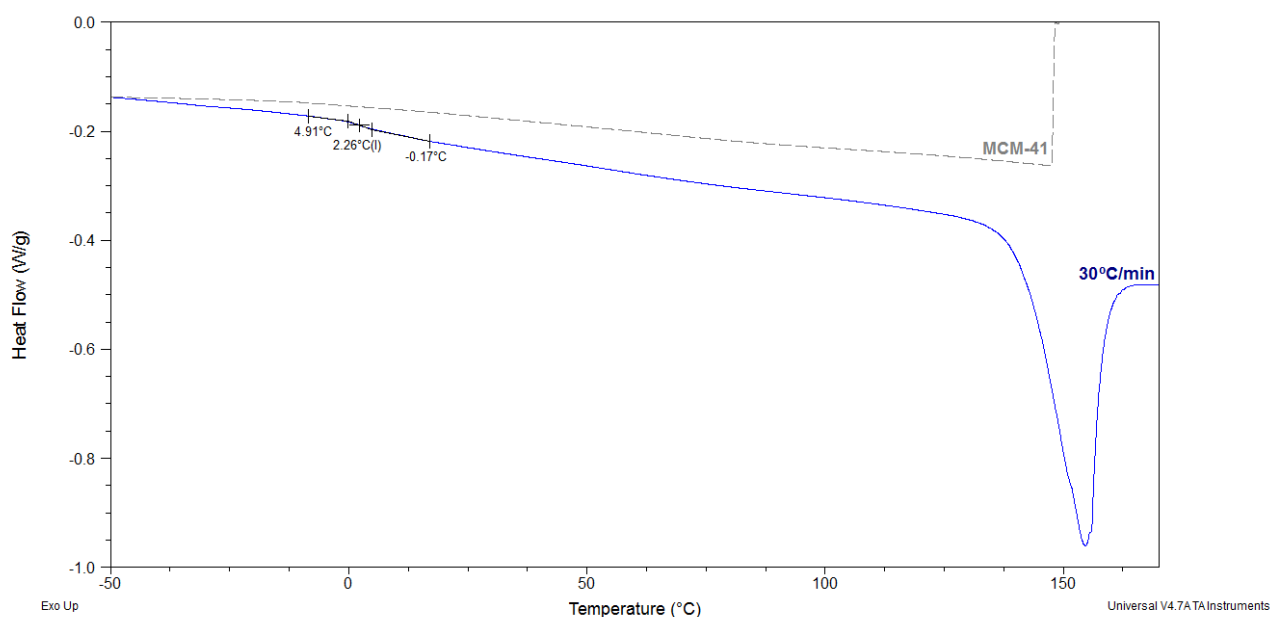


Figura 3.34 - Termograma do naproxeno impregnado em MCM-41 através da técnica sob vácuo, evidenciando último aquecimento e comparando o comportamento térmico da amostra com o da sílica pura.

3.2.4. Naproxeno impregnado em MCM-41 (3.2 nm) através da técnica sob vácuo, utilizando clorofórmio como solvente

Uma vez que os resultados obtidos para o naproxeno confinado sob vácuo se revelaram bastante promissores, decidiu-se repetir a experiência, mas, desta vez, escolheu-se como solvente o clorofórmio. Além de ser mais volátil que o etanol [52], é capaz de dissolver mais facilmente o naproxeno, pelo que se usou menos quantidade de solvente (ver o procedimento na secção 2.1.1). Em relação ao tratamento térmico usado nos ensaios calorimétricos, o compósito foi arrefecido até -90°C e depois aquecido até 175°C. Tal como nas restantes amostras com naproxeno, a mesma foi varrida a uma velocidade de 10°C/min nos primeiros passos e de 30°C/min nos últimos três.

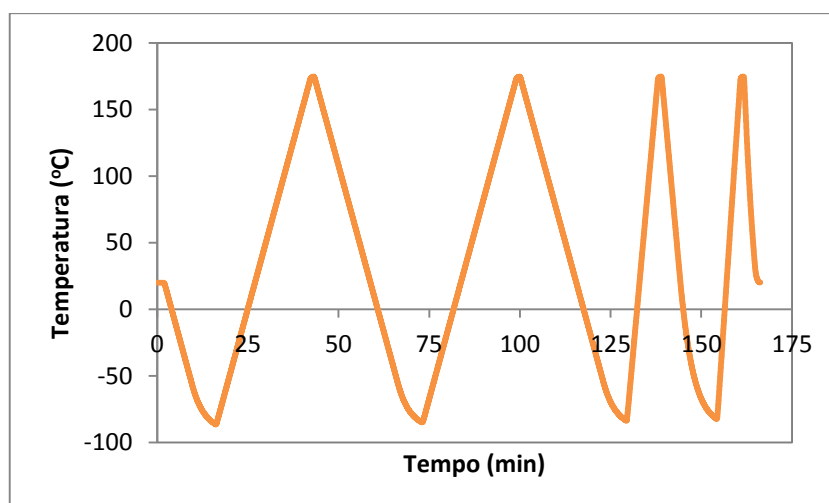


Figura 3.35 - Método utilizado na caracterização do naproxeno impregnado em MCM-41 através da técnica sob vácuo, sendo a velocidade de aquecimento igual à de arrefecimento: 10°C/min nos primeiros cinco passos e 30°C/min nos últimos três.

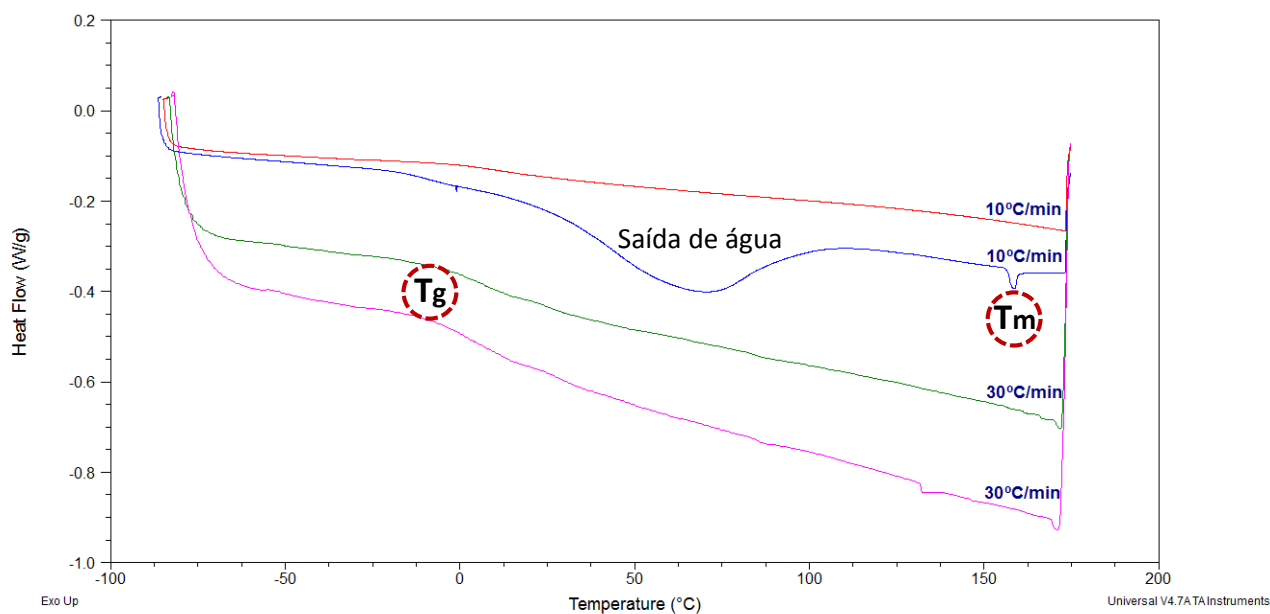


Figura 3.36 - Termograma do naproxeno impregnado em MCM-41 através da técnica sob vácuo, evidenciando todos os aquecimentos estudados.

No primeiro aquecimento, assinalado a azul, observou-se a saída de água da amostra e uma fusão que corresponde ao naproxeno em excesso que não entrou nos poros da sílica. Esta foi registada a uma temperatura de 158.6°C. Nos ciclos corridos a 30°C/min, verificou-se um desnível no fluxo de calor perto dos 0°C, possivelmente relacionado com a transição vítrea do fármaco. Com o intuito de confirmar esta informação, envelheceu-se a amostra a -6°C durante duas horas. Este procedimento, frequentemente utilizado na literatura, age no sentido em que, quando um material permanece algum tempo numa temperatura inferior mas próxima da sua T_g sofre uma diminuição de entalpia e volume livre. Quando a amostra é aquecida, esta variação de entalpia reflecte-se num pico endotérmico na transição vítrea, tanto mais intenso quanto maior for o envelhecimento induzido na amostra. Ultrapassada a transição vítrea, o fluxo de calor retoma à linha correspondente ao estado líquido. Deste modo, os efeitos do envelhecimento são visíveis no ciclo posterior ao tratamento. Esta técnica revelou-se eficaz a salientar a transição vítrea da amostra, a qual foi detectada a uma temperatura de *onset* de 3.5°C. Por esse motivo, é possível afirmar-se que o naproxeno se encontra no estado amorfo.

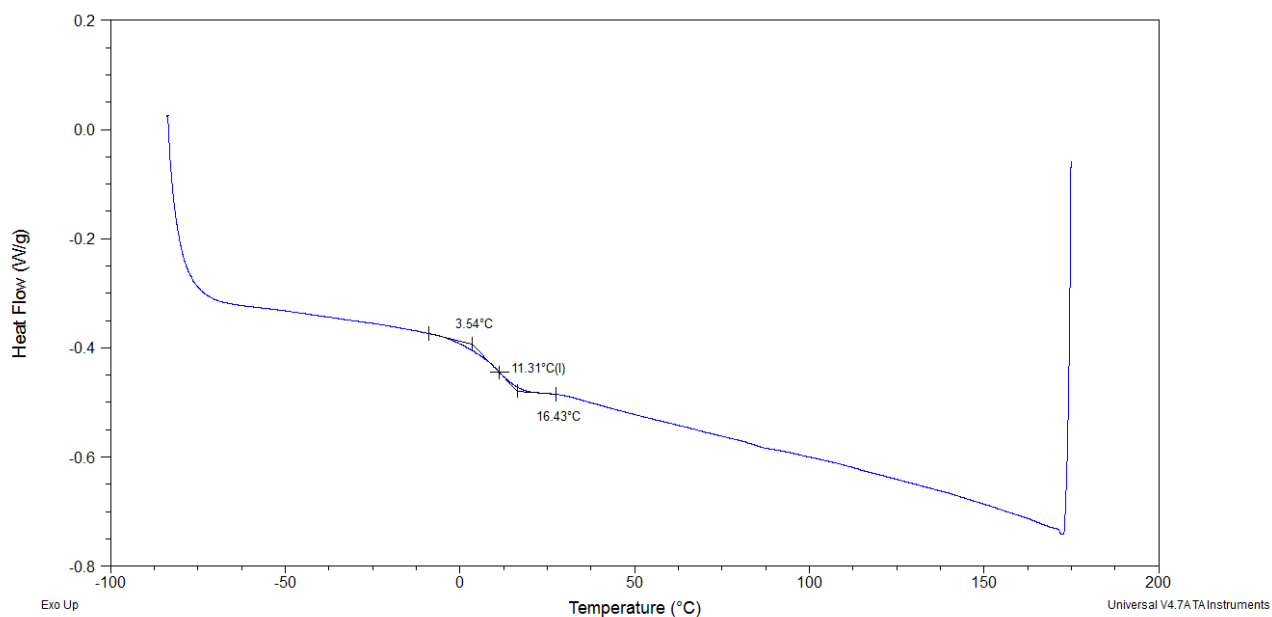


Figura 3.37 - Termograma do naproxeno impregnado em MCM-41 através da técnica sob vácuo, evidenciando o envelhecimento feito à amostra.

Quinze dias depois da impregnação, com o intuito de confirmar se os resultados obtidos se mantiveram, voltou-se a repetir o ensaio térmico, o qual coincidiu com o termograma presente na Figura 3.36. Tal confirma que a amostra não recrystalizou nesse período de tempo.

Como estudos complementares, o compósito formado pela sílica MCM-41 e o naproxeno foi analisado através das seguintes técnicas: TGA, ATR-FTIR, XRD e ^{13}C -RMN. Estes ensaios foram efectuados em Lille, França, mais propriamente na Université Lille 1 durante um estágio de dois meses que realizei nessa instituição.

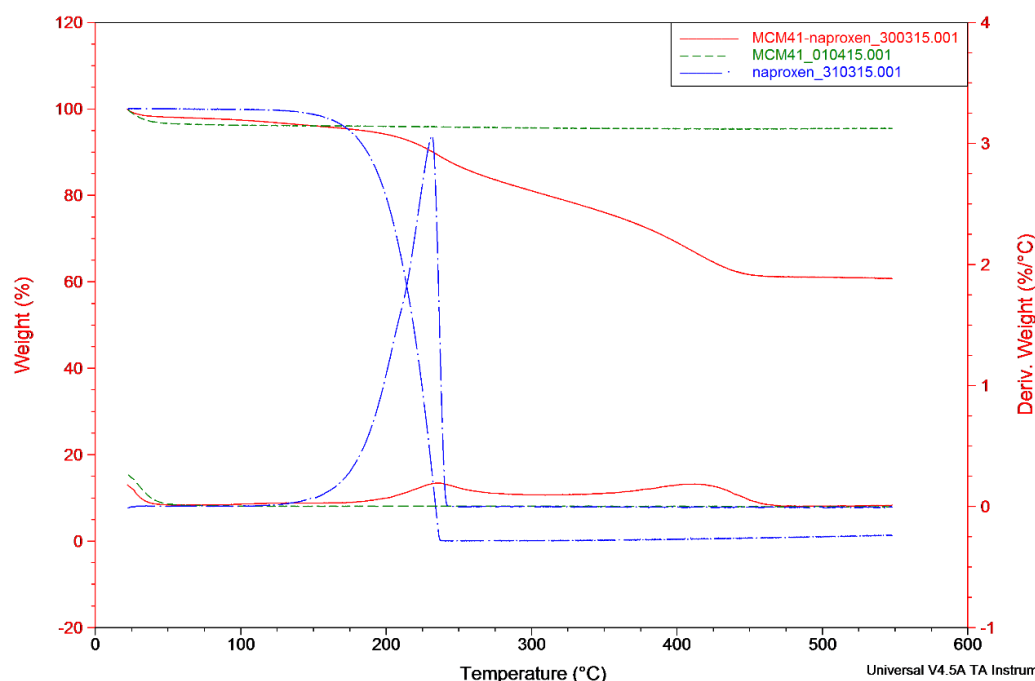


Figura 3.38 - Termograma obtido através da técnica de Termogravimetria (TGA) do naproxeno (azul), MCM-41 (verde) e do naproxeno impregnado em MCM-41 (vermelho). Estes ensaios foram executados pela Dra. Florence Danède.

Tendo em conta que a MCM-41 não se degrada até 700°C, é claro que a degradação visível no termograma acima diz respeito ao naproxeno. Através da curva de perda de peso, é possível estimar a quantidade de naproxeno confinado na sílica como sendo de 35.1%. O perfil de degradação permite-nos concluir que existem duas famílias de naproxeno dentro dos poros da sílica, tal como o homólogo ibuprofeno. Após a evaporação da água (~4%), a primeira saída corresponde ao naproxeno puro, pelo que está relacionada com o naproxeno dentro dos poros da sílica. A segunda perda de peso está associada com o naproxeno adsorvido na superfície interna dos poros da sílica. Estas duas populações têm diferentes mobilidades moleculares. Tal como pode ser observado no termograma, a primeira saída ocorre a cerca de 250°C, enquanto que a segunda só aparece perto dos 400°C. Isto talvez possa ser explicado pelo facto de ser necessário mais temperatura para quebrar a interacção entre o naproxeno e a sílica que provavelmente ocorre através de pontes de hidrogénio. O naproxeno que está adsorvido não está ligado à sílica, pelo que é mais fácil de degradar.

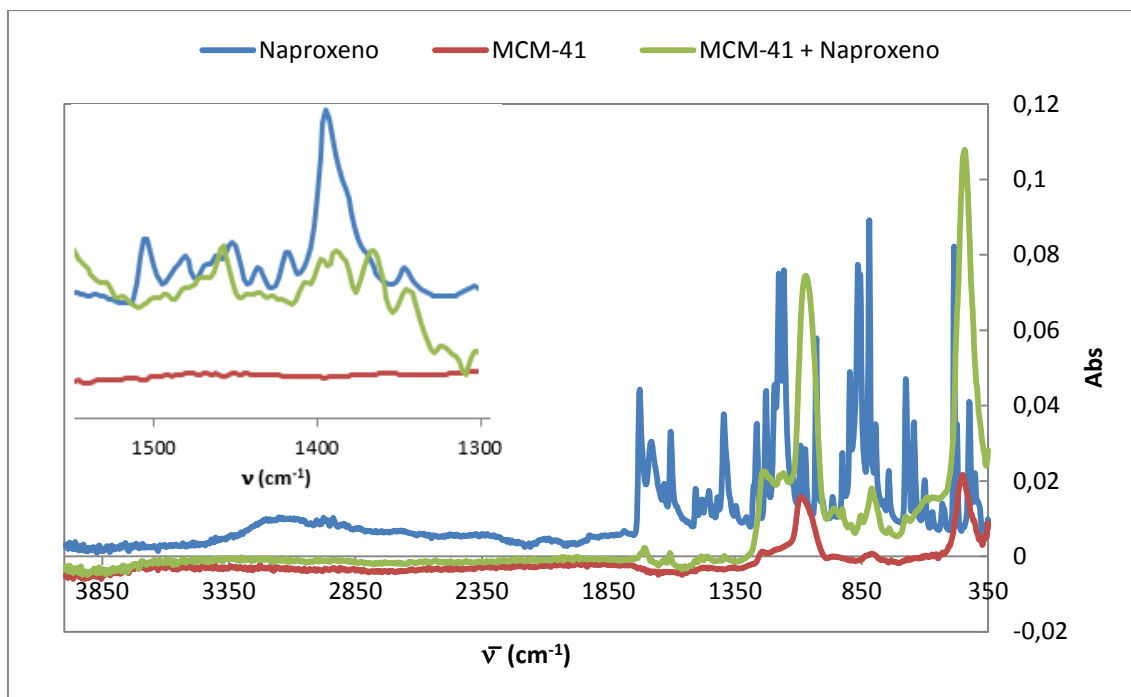


Figura 3.39 - Espectro de ATR-FTIR do naproxeno (azul), MCM-41 (vermelho) e do naproxeno impregnado em MCM-41 (verde) Estes ensaios foram feitos sob a supervisão do Dr. Abdenacer Idrissi.

Analisando a zona de impressão digital do espectro, existem algumas bandas na amostra de MCM-41 com o naproxeno que estão relacionadas com o naproxeno e a sílica puros. No *inset*, encontra-se uma ampliação do espectro que foi melhorado de forma a enaltecer a correspondência entre os materiais nativos e o naproxeno confinado; nesta região espectral a MCM-41 não tem qualquer absorvância.

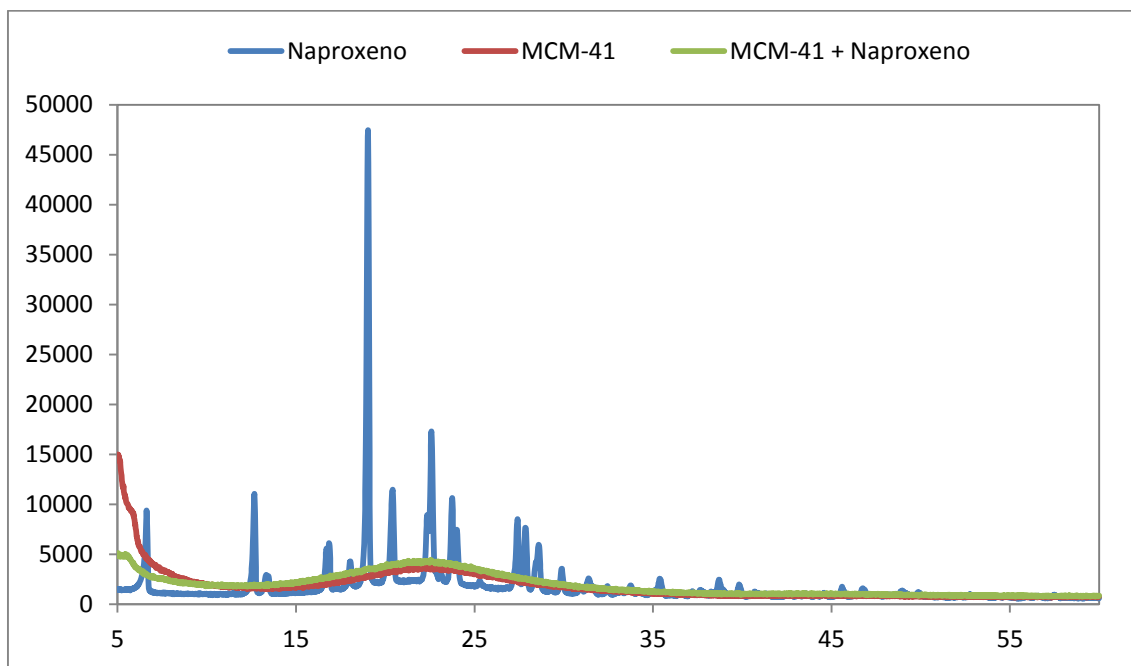


Figura 3.40 - Espectro de difração de raios-X (XRD) do naproxeno (azul), MCM-41 (vermelho) e do naproxeno impregnado em MCM-41 (verde).

A difracção de raios-X mostra que todo o naproxeno presente na mistura se encontra no estado amorfo, uma vez que é apenas observado o halo da forma amorfa. Isto pode ser comparado com os picos de Bragg de naproxeno cristalino que estão ausentes no compósito. Por esta razão, é possível se concluir que o naproxeno confinado dentro dos poros está completamente amorfo.

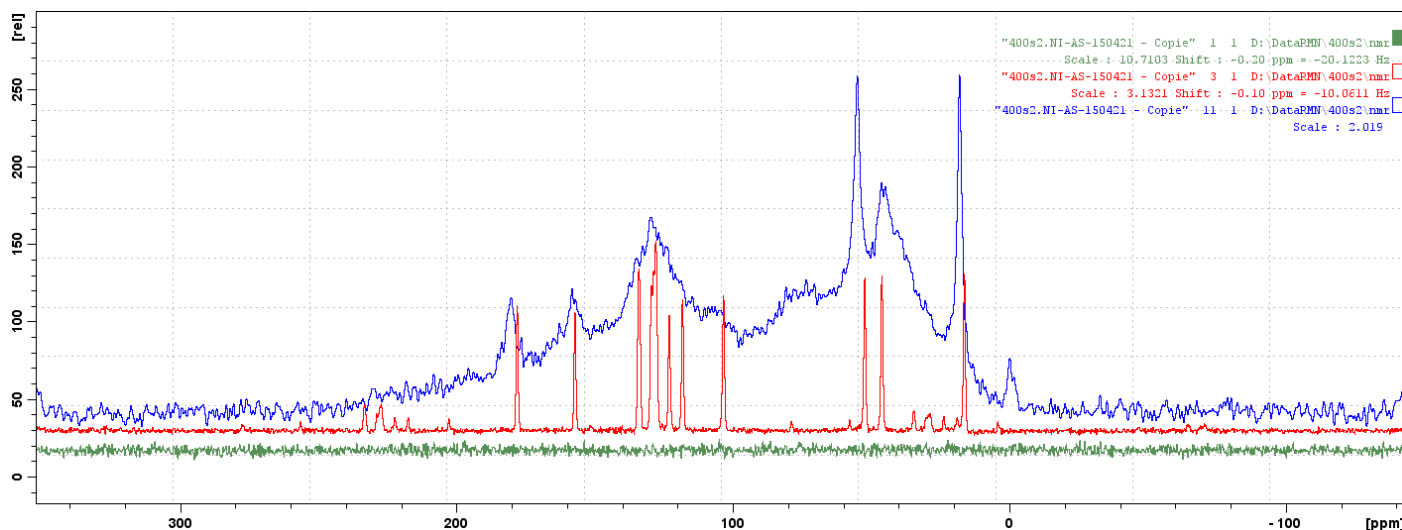


Figura 3.41 - Espectro de ^{13}C -RMN do naproxeno (vermelho), MCM-41 (verde) e do naproxeno impregnado em MCM-41 (azul). De modo a se obter um sinal com menos ruído, o espectro do compósito foi programado para acumular durante 3.5 dias. Estes ensaios foram feitos sob a supervisão do Dr. Bertrand Doumert.

Por fim, o espectro de ^{13}C -RMN mostra uma sobreposição dos sinais adquiridos para o naproxeno e a mistura. Este espectro quase que simula os resultados obtidos através do XRD. Mais uma vez, para o naproxeno cristalino, foram detectados sinais nítidos e bem definidos, enquanto que para o naproxeno impregnado, sinais menos definidos e largos foram obtidos. Isto dá uma evidência adicional de que o naproxeno se encontra na sua forma amorfa. A sílica MCM-41 não apresenta qualquer sinal, como esperado, uma vez que não estão presentes átomos de carbono na sua estrutura.

Estas técnicas permitiram concluir que o naproxeno foi efectivamente impregnado dentro dos poros da sílica; através do TGA, a quantidade estimada foi de 35.1%. Além disso, as diferentes técnicas forneceram provas complementares que o naproxeno se encontra no estado amorfo dentro dos poros da sílica e que não existe fármaco cristalino no compósito. Assim sendo, este método de confinamento foi bem-sucedido.

4. Conclusão

Este trabalho foi efectuado com o objectivo de evitar a cristalização da sinvastatina e do naproxeno, mantendo-os estáveis nas suas formas amorfas para potenciar a solubilidade e a biodisponibilidade dos dois princípios activos. Como tal, utilizaram-se duas estratégias diferentes: mistura comum polímero termo-responsivo (Poli-(MEO₂MA-*co*-OEGMA)), testada com a sinvastatina, e impregnação em sílicas mesoporosas, ensaiada com o naproxeno.

O estudo foi iniciado pela caracterização térmica dos constituintes nativos, tendo sido determinadas as temperaturas das diferentes transformações de fase. No caso da sinvastatina, detectou-se a conversão entre polimorfos ($T_{I \rightarrow II} = -1.1^{\circ}\text{C}$, $T_{II \rightarrow III} = -40.6^{\circ}\text{C}$, $T_{III \rightarrow II} = -38.1^{\circ}\text{C}$ e $T_{II \rightarrow I} = 1.2^{\circ}\text{C}$), fusão ($T_m = 140.9^{\circ}\text{C}$) e temperatura de transição vítrea ($T_{g_onset} = 35.3^{\circ}\text{C}$). No polímero apenas se observou a presença de uma transição vítrea, a qual foi registada a 51.7°C . A caracterização desta matriz foi complementada por medidas de espectroscopia de relaxação dieléctrica, tendo sido observados vários processos de relaxação através da parte imaginária do módulo (M''): um processo secundário abaixo da transição vítrea designado por β e outro associado à transição vítrea, mas altamente influenciado pela condutividade, designado por $\sigma\alpha$. A condutividade do polímero também foi estudada, tendo a condutividade de corrente directa (σ_{dc}) sido registada até -60°C .

A sinvastatina foi dielectricamente estudada anteriormente a este trabalho, mas os dados foram analisados já no contexto deste projecto, tendo sido extraídos os tempos de relaxação para dois processos activos abaixo da T_g (γ e β , em ordem crescente de temperatura), um associado à transição vítrea (α) e, finalmente, a temperaturas mais altas um processo σ resultante da condutividade originada pelo transporte de cargas móveis no material. Analogamente ao polímero nativo, estes estudos foram efectuados pelo M'' .

Diversas misturas com diferentes proporções (massa:massa) de sinvastatina e polímero foram estudadas: 2:1, 3:1 e 4:1. Nas misturas 3:1 e 4:1, não se detectou qualquer fusão ou cristalização, revelando que os materiais estão completamente amorfos. Por outro lado, na mistura 2:1, observou-se a conversão entre polimorfos e fusão, existindo ainda a evidência da presença da transição vítrea do polímero. Estes eventos, indicadores de separação de fase, foram no entanto visíveis apenas no primeiro aquecimento. Após este tratamento térmico a amostra amorfizou, sendo detectada uma única T_g (-21.0°C) a uma temperatura intermédia entre a T_g do polímero e da sinvastatina. A homogeneização da amostra foi provavelmente promovida pela fusão da sinvastatina que, por se encontrar no estado líquido, favoreceu a sua inclusão no polímero. Para cada proporção, a variação da temperatura de transição vítrea com a fracção mássica dos seus constituintes foi analisada pela equação de Fox, o que revelou um acordo satisfatório (desvio $\sim 3\%$) significando que as misturas têm um comportamento próximo do ideal.

A caracterização dieléctrica da mistura 2:1, sujeita a aquecimento prévio para garantir homogeneização e amorfização da amostra, revelou quatro processos de relaxação: dois a temperaturas sub-vítreas localizados em temperatura e frequência próximos das relaxações da sinvastatina e outros dois processos acima da T_g calorimétrica. O processo determinante da temperatura de transição vítrea situa-se a temperaturas intermédias entre os constituintes nativos, tal como encontrado para as transições vítreas por calorimetria. No entanto, os ensaios dieléctricos dão aqui informação adicional sobre a mobilidade subjacente cujo perfil de dependência com o

inverso da temperatura se assemelha muito com o processo correspondente observado na sinvastatina, levando a crer que esta determina em grande extensão a mobilidade da mistura.

O facto de se ter conseguido condições de amorfização para as três misturas é um resultado bastante promissor obtido neste trabalho e envolvendo um fármaco de grande consumo.

Relativamente ao naproxeno nativo, o estudo calorimétrico revelou a alta tendência para cristalizar, não tendo sido conseguidas condições de amorfização, independentemente do tratamento térmico aplicado. Observou-se sempre cristalização a $\sim 118^{\circ}\text{C}$ e fusão a $\sim 156^{\circ}\text{C}$.

Prosseguiu-se então para impregnação em sílica mesoporosa com diferentes tamanhos de poro na ordem dos nanómetros. Dos vários ensaios efectuados, com diferentes solventes e impregnação com material a atmosfera ambiente ou sob vácuo, o que se revelou mais eficaz foi a impregnação sob vácuo utilizando como solvente o clorofórmio. A análise térmica revelou um material totalmente amorfo com uma temperatura de *onset* de 3.5°C , tendo um bom acordo com os dados da literatura para o composto puro. Os ensaios calorimétricos foram complementados por estudos de TGA, ATR-FTIR, raios-X de pó e ^{13}C -RMN realizados na Université Lille 1 sob supervisão de Dra. Natália Correia durante a minha estadia em Lille. A análise termogravimétrica estimou $\sim 35\%$ de naproxeno impregnado na sílica de diâmetro de poro 3.2 nm. A técnica de ATR-FTIR confirmou a presença de naproxeno na amostra e o XRD e ^{13}C -RMN corroboraram o estado amorfo da amostra.

Assim sendo, a amorfização do naproxeno também foi conseguida. O trabalho permitiu aceder *in-situ* ao material assim impregnado sendo desejável no futuro a caracterização da mobilidade molecular nestas condições, uma vez que tal não é possível no composto puro.

5. Bibliografia

- [1] M. R. W. Vergas, F. N. Raffin, T. F. A. L. Moura, *Revista de Ciências Farmacêutica Básica e Aplicada*, **2012**, 33, 4, p. 497–507.
- [2] A. Rathi, “Why there may be fewer truly new drugs hitting the market”, <http://akshatrathi.com/2014/01/22/why-there-may-be-fewer-truly-new-drugs-hitting-the-market/>, consultado em 15/10/2014.
- [3] B. C. Hancock, M. Parks, *Pharmaceutical Research*, **2000**, 17, 4, p. 397–404.
- [4] Infarmed, [Autor Anónimo], “Medicamentos de uso humano”, http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/Infarmed/medicamentos_uso_humano, consultado em 15/10/2014.
- [5] R. Kohavi, N. J. Rothleder, E. Simoudis, *Communications of the ACM*, **2002**, 45, 8, p. 45–48.
- [6] B. B. K. Reddy, A. Karunakar, *Dissolution Technologies*, **2011**, 18, 1, p. 31–37.
- [7] DrugBank, [Autor Anónimo], “Simvastatin”, <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00641>, consultado em 15/10/2014.
- [8] G. T. Rengarajan, D. Enke, M. Steinhart, M. Beiner, *Journal of Materials Chemistry*, **2008**, 18, p. 2537–2539.
- [9] L. Yu, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2001**, 48, 1, p. 27–42.
- [10] P. K. Basniwal, D. Jain, *Current Pharmaceutical Analysis*, **2012**, 8, 2, p. 135–156.
- [11] M. Schachter, *Fundamental & Clinical. Pharmacology.*, **2004**, 19, 1, p. 117–125.
- [12] J-H. An, J-M. Kim, S-M. Chang, W-S. Kim, *Crystal Growth & Design*, **2010**, 10, 7, p. 3044–3050.
- [13] Infarmed, [Autor Anónimo], “Naproxeno”, http://www.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=38410&tipo_doc=fi, consultado em 16/10/2014.
- [14] DrugBank, [Autor Anónimo], “Naproxen”, <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00788>, consultado em 15/10/2014.
- [15] M. Allesø, N. Chieng, S. Rehder, J. Rantanen, T. Rades, J. Aaltonen, *Journal of Controlled Release*, **2009**, 136, 1, p. 45–53.
- [16] M. A. Ward, T. K. Georgou, *Polymers*, **2011**, 3, p. 1215–1242.
- [17] A. Gandhi, A. Paul, S. O. Sen, K. K. Sen, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2015**, 10, p. 99–107.
- [18] J-F. Lutz, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, **2008**, 46, p. 3459–3470.
- [19] P. G. Debenedetti, F. H. Stillinger, *Nature*, **2001**, 410, 6825, p. 259–267.
- [20] F. Lacoulonche, A. Chauvet, J. Masse, *International Journal of Pharmaceutics*, **1997**, 153, 2, p. 167–179.
- [21] J. J. Moura Ramos, H. P. Diogo, *Journal of Chemical Education*, **2006**, 83, 9, p. 1389–1392.
- [22] ten Wolde, P. R. Frenkel, *Science*, **1997**, 277, p. 1975–1978.
- [23] P. G. Vekilov, *Crystal Growth & Design*, **2010**, 10, 12, p. 5007–5019.
- [24] S. Clas, C. Dalton, B. Hancock, *Pharmaceutical Science & Technology Today*, **1999**, 2, 8, p. 311–320.
- [25] R. J. Seyler, *Assignment of the glass transition*, (Ed.: R. J. Seyler), ASTM, **1994**, p. 227.

- [26] G. Kaletunç, *Calorimetry in Food Processing: Analysis and Desing of Food Systems*, Ed.: G. Kaletunç, Wiley-Blackwell, **2009**, p. 294.
- [27] K. Lukas, P. K. LeMaire, *Resonance*, **2009**, 14 (9), p. 807–817.
- [28] F. Kremer, A. Schönhals, “Broadband Dielectric Spectroscopy”, F. Kremer and A. Schönhals, Eds. Berlin: Springer- Verlag Berlin Heidelberg, **2003**.
- [29] Agilent Technologies, “Basics of Measuring the Dielectric Properties of Materials”, <http://www.imperial.ac.uk/pls/portallive/docs/1/11949698.PDF>, consultado em 10/09/2015.
- [30] V. Electrical, R. A. Daniel, *Dielectric Relaxation*, Academic P. London, **1967**.
- [31] Arizona State University, Ranko Richert, "Dielectric Modulus: Experiment, Application and Interpretation", <http://www.uni-leipzig.de/~ids2012/tutorials/richert2005.pdf>, consultado em 10/09/2015.
- [32] K. A. Ross, S. D. Arntfield, S. Cenkowski, **2013**, Chapter 3 in Polymer Science, Ed.: Dr. F. Yilzhan.
- [33] A. Jentys, N. H. Pham, H. Vinek, M. Englisch, J. A. Lercher, *Microporous Materials*, **1996**, 6, p. 13–17.
- [34] D. Zhao, J. Feng, Q. Huo, N. Melosh, G. Fredrickson, B. Chmelka, G. Stucky, *Science*, **1998**, 279, 5350, p. 548–552.
- [35] A. Jomekian, A. Shafiee, A. Moradian, *Desalination and Water Treatment*, **2012**, 41, p. 53–61.
- [36] J. S. Beck, J. C. Vartuli, W. J. Roth, M. E. Leonowicz, C. T. Kresge, K. D. Schmitt, C. T-W. Chu, D. H. Olson, E. W. Sheppard, S. B. McCullen, J. B. Higgins, J. L. Schlenker, *Journal of American Chemical Society*, **1992**, 114, p. 10834–10843.
- [37] F. Hoffmann, M. Cornelius, J. Morell, M. Fröba, *Angewandte Chemie International Edition*, **2006**, 45, p. 3216–3251.
- [38] B. C. Hancock, M. Parks, *Pharmaceutical Research*, **2000**, 17, 4, p. 397–404.
- [39] C. J. Roberts, P. G. DeBenedetti, *American Institute of Chemical Engineers Journal*, **2002**, 48, p. 1140–1144.
- [40] D. Zhou, G. G. Z. Zhang, D. Law, D. J. W. Grant, E. A. J. Schmitt, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2002**, 91, p. 1863–1872.
- [41] Perspectives of a Young Scientist, Matt, “Under the Hood: Amorphous Solids”, <http://pharmjack.blogspot.fr/2011/06/under-hood-amorphous-solids.html>, consultado em 10/06/2015.
- [42] M. Beiner, G. T. Rengarajan, S. Pankaj, D. Enke, M. Steinhart, *Nano Letters*, **2007**, 7, p. 1381–1385.
- [43] D. Kranbuehl, R. Knowles, A. Hossain, M. Hurt, *Journal of Physics: Condensed Matter*, **2003**, 15, p. S1019–S1029.
- [44] J. Koppensteiner, W. Schranz, M. A. Carpenter, *Physical Review B*, **2010**, 81, 024202.
- [45] C. Iacob, J. R. Sangoro, P. Papadopoulos, T. Schubert, S. Naumov, R. Valiullin, J. Kärger, F. Kremer, *Physical Chemistry Chemical Physics*, **2010**, 12, p. 13798–13803.
- [46] E. Merino, P. Neves, I. Fonseca, F. Danède, A. Idrissi, C. Dias, M. Dionísio, N. Correia, *Journal of Physical Chemistry C*, **2013**, 117, 41, p. 21516–21528.
- [47] A. R. Brás, I. M. Fonseca, M. Dionísio, A. Schönhals, F. Affouard, N. T. Correia, *Journal of Physical Chemistry C*, **2014**, 118, p. 13857–13868.
- [48] R. Bergman, J. Swenson, *Nature*, **2000**, 403, p. 283–286.

[49] Pharma Change, Red Devils, “A Review of Polymorphism and the Amorphous State in the Formulation Strategy of Medicines”, <http://pharmaxchange.info/press/2011/09/a-review-of-polymorphism-and-the-amorphous-state-in-the-formulation-strategy-of-medicines/>, consultado em 10/09/2015.

[50] T. G. Nunes, M. T. Viciosa, N. T. Correia, F. Danède, R. G. Nunes, H. P. Diogo, *Molecular Pharmaceutics*, **2014**, 11, p. 727–737.

[51] A. C. Quental, F. P. Carvalho, E. S. Tada, M. I. Felisberti, *Química Nova*, **2010**, 33, 2, p. 438–446.

[52] [Autor Anónimo], <http://dwb.unl.edu/calculators/pdf/VPboil.pdf>, consultado em 10/09/2015

6. Anexos

Phase transformations of a pharmaceutical drug incorporated in a thermoresponsive biopolymer by using sc-CO₂



Teresa Cordeiro,¹ Andreia Santos,¹ Catarina Santos,² José P. Farinha,² Alexandre Paiva,¹
Susana Barreiros,¹ Madalena Dionísio,¹ Natália T. Correia³ and Maria Teresa Viciosa²

¹REQUIMTE/CQFB, Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, 2829-516 Caparica, Portugal.

²CQFM – Centro de Química-Física Molecular and IN – Institute of Nanoscience and Nanotechnology, Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Avenida Rovisco Pais, 1049-001 Lisboa, Portugal.

³Unité Matériaux et Transformation (UMET), UMR CNRS 8207, UFR de Physique, BAT P5, Université Lille 1, 59655 Villeneuve d'Ascq, France.

Objective

The main objective is the impregnation of an API in a thermoresponsive biopolymer by using supercritical fluid (SCF) technology in order to formulate a new system that improves the biocompatibility of this pharmaceutical.

Materials

The API used in this work belongs to Class II in Biopharmaceutical Classification System (BCS) due to its poor water solubility and a high intestinal permeability, being of the statins family.

A copolymer of 2-(2-methoxyethoxy) ethyl and poly(ethylene glycol) and methyl ether methacrylate ($M_n = 475 \text{ g mol}^{-1}$ (from Aldrich) in the ratio (1:9) was synthesized via atom transfer radical polymerization (ATRP). Dissolved in water, it exhibits a lower critical solution temperature close to 45°C.

Dielectric and Thermal Characterization of Bulk Materials

The API can be easily obtained in the amorphous form from cooling from the melt ($T_m = 142^\circ\text{C}$). The glass transition temperature determined by DSC was $T_{g,\text{onset}} = 30^\circ\text{C}$ (Figure 1).

The biopolymer present a low T_g , $\sim 60^\circ\text{C}$, and doesn't show any tendency for crystallization.

Permittivity spectra of amorphous API show the main relaxation process associated with the dynamical glass transition and two secondary relaxations in the sub-glass region (Figure 2).

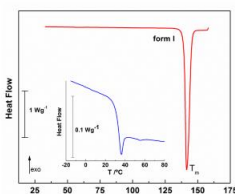


Figure 1. DSC thermograms of API obtained upon heating at $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

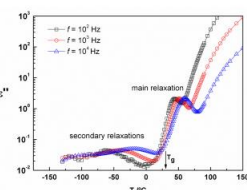


Figure 2. Isochronal measurements of ϵ'' of bulk amorphous API.

Thermal Characterization of API/Biopolymer System

Two different impregnations were carried out confirming results of Figure 4. Glass transition of bulk polymer is clearly detected meaning that SCF conditions doesn't change the API physical state. Glass transition of API is observed ($T_{g,\text{onset}} = 41^\circ\text{C}$) followed by an exothermic peak probably associated to the melting of a new crystalline form ($T_m = 58^\circ\text{C}$).

Conclusions

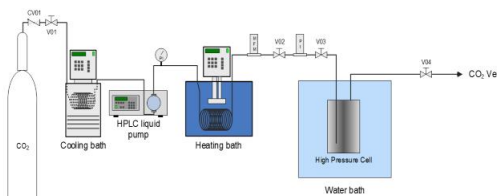
It is shown that supercritical fluid technology is a suitable method for the API impregnation in the biopolymer. In the produced composite, the glass transition of API is slightly increased relatively to bulk. It undergoes melt crystallization and the respective melting is significantly changed that can be an indication of the formation of a new crystalline form. Moreover, the high depression of T_m relative to the bulk API could mean a higher disordered form compared with the conventional crystal and thus it is expected to exhibit enhanced solubility and bioavailability. The study reveals that the thus obtained composite may be promising for controlled drug delivery applications.

Acknowledgments: M. T. V. and J. P. F. thank Fundação para a Ciência e Tecnologia for the postdoctoral fellowship SFRH/BPD/39691/2007 and the project PTDC/CTMNAN/2354/2012.



Impregnation by SCF Technology

1. The biopolymer and drug are loaded into a 20 ml stainless steel high pressure cell in separate compartments.
2. The temperature is assured by a water bath at 40°C .
3. When temperature is stabilized CO_2 is pressurized into the cell by an HPLC liquid pump. CO_2 is liquefied in a cooling bath before being pump by the HPLC pump. Afterwards CO_2 is heated to the experiment temperature. When the desired pressure is achieved (25 MPa) the cell is isolated by closing valve V03.
4. The system remains at 40°C and 25 MPa for 5 h after which is slowly depressurized through valve V04.



Dielectric spectra of pure biopolymer are characterized by a high conductivity allowing obtaining the direct current, σ_{dc} , from the fitting with Jonscher's equation ($\sigma'(f) = \sigma_{dc}[1 + (f/f_c)^2]$). σ_{dc} exhibits a non-Arrhenius temperature dependence (Figure 3).

Figure 3. Representative spectra of σ' taken every 10 degrees from -60 to 100°C of pure polymer. Inset: temperature dependence of σ_{dc} and the fitting line of VFT equation.

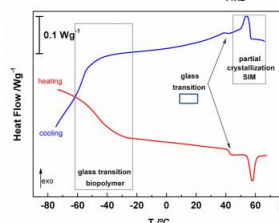
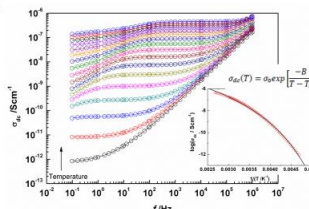


Figure 4. Thermogram obtained for a sample with API impregnated in the biopolymer: $\dot{T}_{\text{heat}} = \dot{T}_{\text{cool}} = 10^\circ\text{C min}^{-1}$.

Tabela 6.1 - Estimativa dos custos associados a este trabalho.

	Embalagem (Preço / Qtd)	Quantidade gasta	Custo (€)
Naproxeno Sinvastatina	78€/5 g	212 mg	3.30€
	43€/5 g	568 mg	4.80€
Polímero Sílicas	82€/100 ml	538 mg	0.50€
	160€/5 g	586 mg	16.75€
Clorofórmio Etanol	124€/2.5 l	2 ml	0.10€
	51€/2.5 l	88 ml	1.80€
Azoto líquido Azoto Cápsulas herméticas	55€/100 l	200 l	110€
	150€/un	0.5	75€
	6€/un	24	144€
Transporte Acomodação Bolsa	---	---	325€
	---	---	1200€
	---	---	2400€
			Total:4281.25€